8-SUBSTITUIERTE THIAFLAVINE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
im Fachbereich Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
ANNETTE MECKLENBURG
aus Berlin
1985

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549615_0004

8-SUBSTITUIERTE THIAFLAVINE

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der
Doktorwürde im Fachbereich Pharmazie der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Annette Mecklenburg
aus Berlin

BERLIN 1985

1. Gutachter: Prof. Dr. H. Fenner

2. Gutachter: Prof. Dr. R. Hänsel

Tag der mündlichen Prüfung: 26. Juni 1985

Für Klaus
und meine Eltern
in Liebe und Dankbarkeit

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut
für Pharmazie der Freien Universität Berlin
auf Anregung und unter Leitung von
Herrn Prof. Dr. Helmut Fenner durchgeführt.

Für die Überlassung des Themas und
anregende Diskussionen danke ich
Herrn Prof. Dr. Fenner herzlich.

Dem Arbeitskreis danke ich für freund-
schaftliche Zusammenarbeit in einem
angenehmen Arbeitsklima.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

I.	EINLEITUNG	1
1.	Das Flavin-System	1
1.1.	Das Flavin-Redox-System	3
2.	Variationen am Flavin-System	6
3.	Problemstellung	11
II.	THEORETISCHER TEIL	12
1.	Bekannte Synthesen von Thia-alloxazinen und Thia-isoalloxazinen	12
1.1.	Darstellung von Diazaphenothiazinen	12
1.2.	Darstellung von 2,4-Dioxo-10H-pyrimido-[5,4-b][1,4]benzothiazinen	16
1.2.1.	Cyclisierung von Arylpyrimidinen	18
1.2.2.	Kondensation von Anilinouracilen mit Thionylchlorid	23
2.	Darstellung von 8-Donator-substituierten 5-Thiaflavinen	26
2.1.	Synthese der N-Alkylaniline	28
2.1.1.	Spektrale Daten der Anilide 54, 69 und 70, sowie der Anilin-Derivate 55	32
2.2.	Synthese Donator-substituierter 6-Anilinouracile (58)	37
2.2.1.	Spektrale Daten von 58	39
2.3.	Cyclisierung der Anilinouracile 58 unter Bildung der 5-Thiaflavine	44
2.3.1.	Darstellung 4a-Cl-substituierter Pyrimido-benzothiazin-Derivate (64 bzw. 65)	44
2.3.1.1.	6,7-Isomerenbildung	47
2.3.1.2.	Spektroskopische Identifizierung der 4a-Cl-Derivate	48

2.3.2. Reduktion von 64 zu 2,4-Dioxo-pyrimido-benzothiazinen..... 57
2.3.2.1. Trennung des Isomerengemisches 66/67..... 58
2.3.2.2. Spektrale Daten von 66 bzw. 67..... 58

3. Das Redox-System der 2,4-Dioxo-pyrimido-benzothiazine..... 67
3.1. $sFl_{red}H$ - Die reduzierte Stufe des 5-Thiaflavins..... 67
3.1.1. UV-spektroskopische Untersuchung der modifizierten Dihydro-5-Thiaflavine..... 67
3.2. Struktur und spektrale Eigenschaften oxidierter 5-Thiaflavine..... 73
3.2.1. Ein-Elektronen-Oxidation zum 5-Thiaflavin-Radikal $sFl^{\cdot}$..... 73
3.2.1.1. Die Semichinon-Stufe des natürlichen Flavins..... 73
3.2.1.2. Struktur und Stabilität der modifizierten Thiaflavin-Radikal-Kationen..... 76
3.2.1.3. Struktur und Stabilität der 8-ständigen Donator-substituierten Neutralradikale..... 84
3.2.2. Zwei-Elektronen-Oxidation..... 87
3.2.2.1. Struktur und Stabilität 8-substituierter Thiaflavin-Sulfoxide..... 89
3.2.2.2. Spektroskopische Daten der Sulfoxide 73..... 90
3.2.2.3. Struktur und UV/VIS-spektroskopische Charakterisierung der Thiazonium-Kationen 74..... 96

4. Biochemisch-pharmakologische Untersuchungen 8-substituierter Thiaflavine..... 100

5. Zusammenfassung..... 101

III. EXPERIMENTELLER TEIL..... 103

IV. LITERATURVERZEICHNIS..... 180

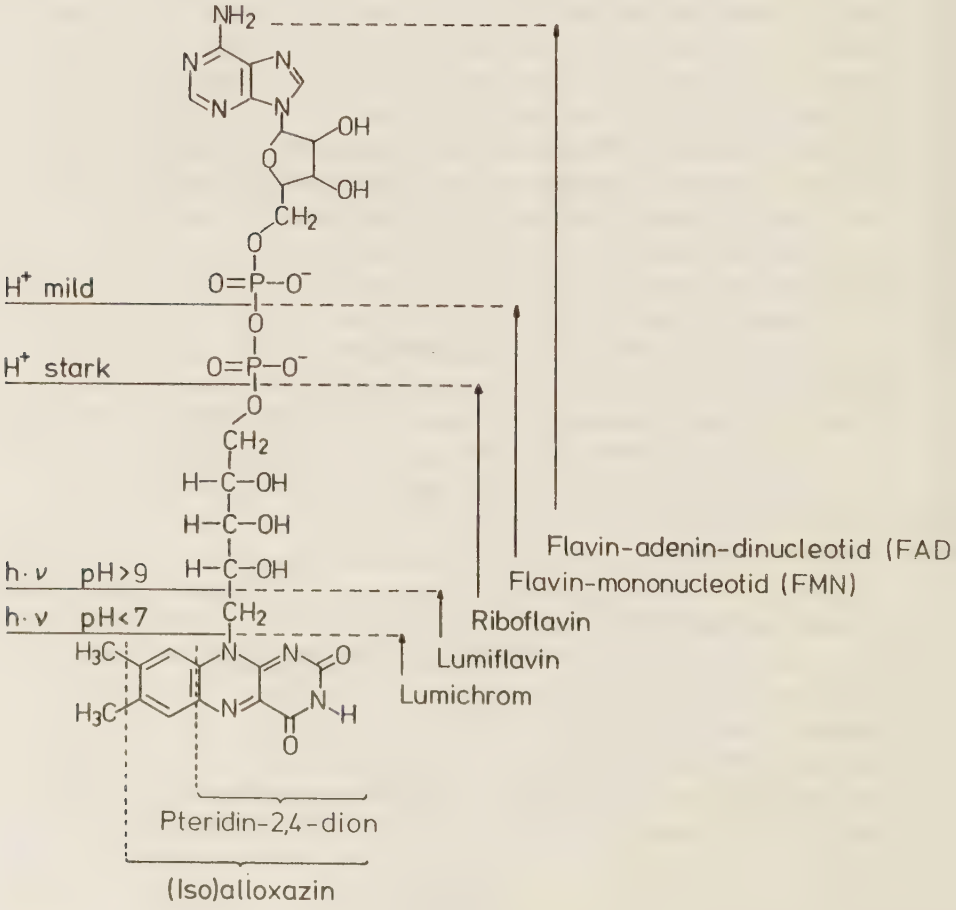
I. EINLEITUNG

1. Das Flavin-System

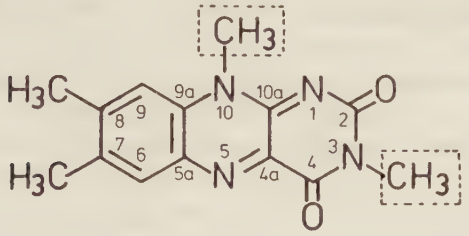
Als Flavin wird die redox-aktive prosthetische Gruppe der Flavoproteine, die zu den Atmungs-Enzymen zählen, bezeichnet. Durch pH-Verschiebung und Dialyse oder Proteinfällungsmittel lassen sich einige Flavoproteine in ihre Apoproteine und in ihre Coenzyme trennen. 1934 gelang THEORELL [1-4] die Spaltung des NADPH-oxidierenden "Alten Gelben Enzyms" der Hefe in Riboflavin-5'-phosphat, als Flavocoenzym, und dem Apoprotein. Durch Inkubation des inaktiven Proteins mit Flavin, konnte das aktive Holoenzym regeneriert werden.
Neben dem Riboflavin-5'-phosphat (FMN), das von KARRER et.al.[5] synthetisiert werden konnte, enthalten die meisten Flavoproteine im biologischen System das Flavin-adenin-dinucleotid (FAD). Die Bezeichnung der beiden Flavocoenzyme als Flavin-Nukleotide ist nicht korrekt, da es sich nicht um ein N-Glykosid einer Ribosephosphorsäure handelt.
In allen Flavoproteinen geht das Coenzym mit dem Apoprotein eine feste Bindung ein. So ist in einigen Flavoenzymen das Flavinnukleotid (FMN oder FAD) mit dem Protein kovalent verbunden. Die Verknüpfung erfolgt im allgemeinen zwischen der 8-Methyl-Gruppe und dem Heteroatom einer Aminosäure des Proteins. Dieses ist z.B. der Fall im 8-α-Cysteinyl- und im 8-α-Histidyl-Flavin [6]. Bei der Mehrzahl der Flavoproteine ist der Proteinanteil mit dem Flavin durch Nebenvalenzen fest verbunden.

Spektroskopische Untersuchungen von modifizierten natürlichen Flavinen - den aus der NADH-Dehydrogenase von Peptostreptococcus elsdenii isolierten 6-Hydroxy- und 8-Hydroxy-flavinen - ergaben, daß in dem als tautomere chinoide Form vorliegenden Flavin-Anion eine Bindung des positiv geladenen Proteinteils mit der über das Stickstoff-Atom N-1 bis zum C-2α-Atom delokalisierten negativen Ladung des Flavins stattfindet [7/8].

Die saure Hydrolyse des Flavocoenzyms führt zum Riboflavin (Vitamin B_2 bzw. Lactoflavin), dessen Isolierung aus biologischem Material 1933 KUHN et. al. [9] gelang.
Die Photolyse im Sauren bis Neutralen führt zur N-10-Dealkylierung unter Bildung des farblosen Lumichrom. Dagegen wird bei der Photolyse im Alkalischen die Seitenkette nur bis zu einer Methyl-Gruppe abgebaut und es entsteht das schon 1934 von KUHN u. WEYGAND [10] synthetisierte Lumiflavin.



Nach Abtrennung vom Apoprotein zeichnen sich die Flavocoenzyme durch veränderte chemische Eigenschaften aus.
Um geeignete "Modellsubstanzen" für Protein-gebundene Flavine zu erhalten, muß die Ribityl-Seitenkette entweder acetyliert oder durch einen Alkyl-Rest an N-10 ersetzt werden und das Stickstoffatom in 3-Position alkyliert werden. Die so erhaltenen 3,10-Dialkyl-isoalloxazine zeigen die gleiche Lichtstabilität, sowie ähnliche lipophile und hydrophile Eigenschaften wie der Flavin-gebundene Chromophor.



1.1. Das Flavin-Redox-System

Das Flavin stellt ein "chinoides" Redox-System dar, das durch eine Oxidoreduktion charakterisiert ist, die sowohl beim $1e^-$ -Transfer, als auch beim $2e^-$ -Transfer reversibel ist.

Im oxidierten Zustand entspricht das Flavin-System einem Chinon (Flavochinon; Fl_{ox}), das durch die Aufnahme von einem Elektron, unter Bildung der radikalischen Form, zum Flavosemichinon ($Fl^{\cdot}H$) reduziert wird. Durch Aufnahme zweier Elektronen wird das Flavohydrochinon (H_2Fl_{red}) gebildet, das die vollständig reduzierte Form darstellt.

Die Funktionen der Flavoproteine sind vielseitig und äußern sich in einer großen Anzahl enzymatischer Reaktionen, die sowohl einen Ein-Elektronen-Transfer, als auch einen Zwei-Elektronen-Transfer beinhalten. Oft sind beide Funktionen von ein und demselben Enzym katalysiert. [6/11-14]

1) Reine Dehydrogenasen : H^--Transport ($NAD^+ \longrightarrow NADH$)

1) Dehydrogenasen/Oxidasen : $O_2 \xrightarrow{2e^-/2H^+} H_2O_2$

3) Dehydrogenasen/Oxigenasen : $O_2 \xrightarrow{4e^-/RH/2H^+} R\text{-}OH + H_2O$

4) Dehydrogenasen/e^--Transferasen : $O_2 \longrightarrow O_2^-$

5) Reine e^--Transferasen : e^--Transfer ($Fe^{3+} \xrightarrow{e^-} Fe^{2+}$)

Die aufgenommenen Elektronen können vom Flavin als "Hydrid-Äquivalent" oder nacheinander in Form von zwei Radikal-Elektronen und einem Proton weitergegeben werden. Dabei ist eine Stabilisierungsmöglichkeit für die halbreduzierte Stufe des Flavins Voraussetzung.

Während des Zwei-Elektronen-Schrittes wirken die Flavoproteine als anaerobe Dehydrogenasen. Der Protein-Anteil ist durch Wasserstoff-Brücken mit dem N-1-Atom verbunden. Als Folge davon liegt das instabile Flavosemichinon in der tautomeren Form 1-H-Fl$^\cdot$ vor, so daß keine stabilen Radikale gebildet werden können und nur der Zwei-Elektronen-Transfer möglich ist [6].

Der Ein-Elektronen-Transfer wird durch Ausbildung von Wasserstoff-Brücken zwischen dem Proteinanteil und dem Stickstoff-Atom in 5-Position begünstigt, da das Flavosemichinon in Form seiner stabilen tautomeren Struktur 5-H-Fl· vorliegt und in dieser Form einzelne Elektronen aufnehmen bzw. abgeben kann. Diese Reaktion wird von e^--Transferasen katalysiert.

Flavoproteine können als Umschaltstelle zwischen obligatorischen Zwei-Elektronen-Donatoren (z.B. Oxidation von NADH ⟶ NAD, Succinat⟶Fumarat, Lactat⟶Pyruvat) und typischen Ein-Elektronen-Akkzeptoren (z.B. Cytochrom b - ein Häm-Protein -; Adrenodoxin - ein Eisen-Schwefel-Protein -) dienen.
Die hier als Zwei-Elektronen-Schritt ablaufende Input-Reaktion wird durch die Ausbildung von Wasserstoff-Brücken am N-1-Atom mit dem Proteinanteil verursacht. Dadurch wird das instabile 1-H-Fl·-Semichinon gebildet.
Im Verlauf der Output-Reaktion erfolgt eine Konformationsänderung des Flavoproteins, und es bilden sich, unter Stabilisierung des 5-HFl·, Wasserstoff-Brücken zwischen dem Stickstoff-Atom in 5-Position und dem Proteinanteil aus, so daß wieder einzelne Elektronen aufgenommen bzw. abgegeben werden können.

Gegenüber molekularem Sauerstoff sind Flavoproteine sehr reaktiv. So kann einerseits ein Ein-Elektronen-Transfer stattfinden, wobei als Zwischenprodukte Peroxid und Flavosemichinon gebildet werden. Andererseits kann direkt eine Zwei-Elektronenreduktion von O_2 zu H_2O_2 stattfinden.
Als dritte Möglichkeit wird bei der Mono-Oxygenase-Reaktion unter reduktiver Aktivierung von vier Elektronen das eine Sauerstoff-Atom des molekularen Sauerstoffs (O_2) in H_2O, das zweite in ein anderes Substrat des Enzyms eingebaut.

2. Variationen am Flavin-System

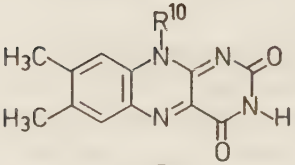
Durch

A: - Veränderung der N(10)-Ribityl-Seitenkette [15/16],

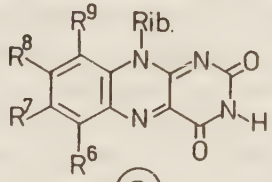
B: - Veränderung der Substituenten am Aromaten [17-25]

C: - und durch Substitution der Ketofunktionen im Pyrimidin-Teilkern [26/27],

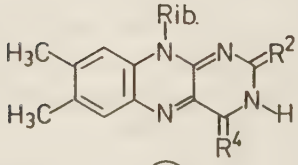
erfolgte unter Beibehaltung des redox-aktiven azachinoiden Systems Abwandlung des Flavin-Grundkörpers mit dem Ziel, pharmakologisch interessante Flavine zu erhalten.



A

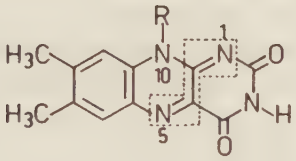


B



C

Zu einer Veränderung der Redox-Eigenschaften führt die Abwandlung des Pyrazin- und des Pyrimidin-Teiles.
Durch isosteren Austausch des Stickstoff-Atoms in N(5), N(1), und N(10) durch Kohlenstoff bzw. Schwefel erhielt man:



N(1) : 1-Deazaisoalloxazine [28]

N(1/5): 1,5-Diazaisoalloxazine [28-30]

N(5) : 5-Deazaisoalloxazine [31-52]
5-Thiaisoalloxazine [35/53/54/79-81]

N(10) : 10-Deazaisoalloxazine [55/56]
10-Thiaisoalloxazine [57]

* Der N/C-Austausch in Position 1 führt zu 1-Deazaflavinen, die in ihren Redox-Eigenschaften mit den Flavinen vergleichbar sind. Sie zeichnen sich durch O_2-Aktivität und Bildung von Radikalen aus.

* Der N/C-Austausch in Position 5 führt zu 5-Deazaflavinen (Pyrimido[5,4-b]chinolin-2,4-(1H,3H)dionen).
Sie bilden ein Redox-System mit einer Zwei-Elektronen-Input-Output-Funktion, in dem die chinoide Redox-Stufe ein Flavin-analoges System darstellt. Die Bildung von stabilen Radikalen ist jedoch nicht möglich.
Somit wird das 5-Deazaflavin als ein "Radikal-freies" Flavin charakterisiert, das lediglich die Transhydrogenase Funktionen der Flavoproteine nachahmen kann.

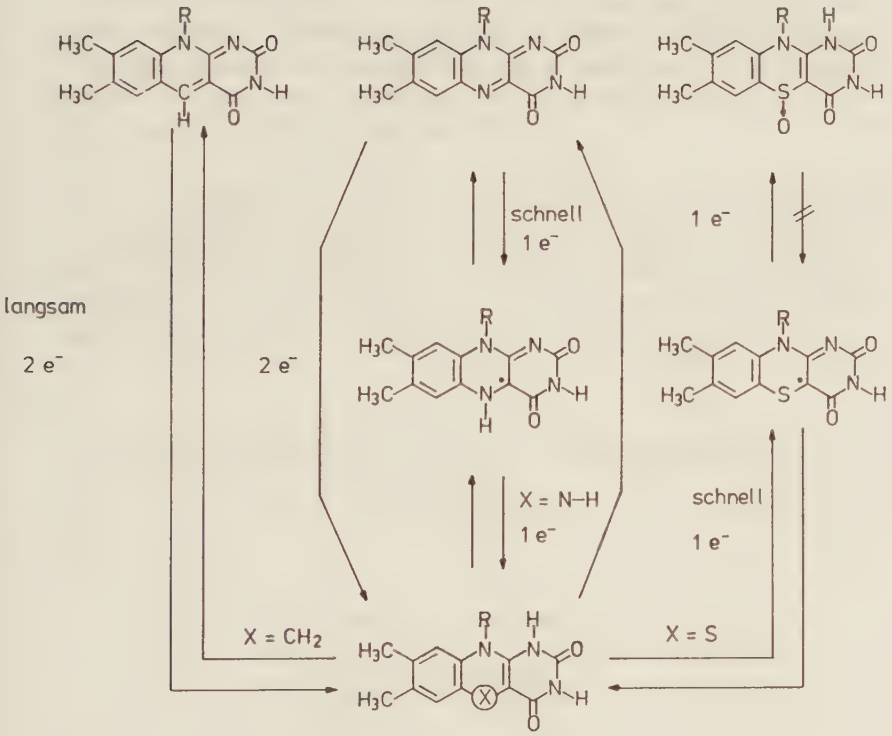
* Durch N/S-Austausch in Position 5 erhält man 5-Thiaflavine (2,4-Dioxo-pyrimido[5,4-b][1.4]benzothiazine). Sie zeichnen sich durch eine O_2-stabile hydrochinoide Stufe aus und sind in der semichinoiden Form durch das Auftreten stabiler Radikale charakterisiert.
Sie sind jedoch nicht fähig, eine oxidierte Stufe auszubilden, die reversibel reduziert werden kann.
Formal als "chinoide Form" ist das Thiazonium-Kation aufzufassen, das jedoch nur in stark mineralsaurer Lösung stabil ist.

Vergleich Flavin, Deazaflavin und Thiaflavin:

	Flavine	5-Deazaflavine	5-Thiaflavine
Radikal chemisch	reversibel Disprop.	irreversibel Disproport.	stabil
Protein-Bindung	stabil	instabil	stabil
Oxidierte Form	chinoid	chinoid (Flavin-analog)	nicht-chinoid (Sulfoxid)
Reduzierte Form	hydrochinoid	nicht-hydrochinoid	hydrochinoid (Flavin-analog)
Redox-Stufen			
2 e^- (Dehydrogenase)	+	+	-
1 e^- (e^--Transferase)	+	-	+

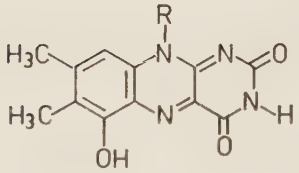
Demzufolge kann das 5-Thiaflavin nur in der Dihydro- und Radikal-Stufe als Flavin-analoges System angesehen werden.

Vergleich Flavin, Deazaflavin und Thiaflavin
- reduzierte, halbreduzierte und oxidierte Stufen -

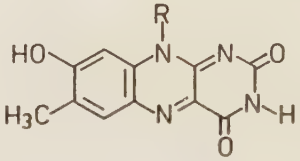


In den letzten Jahren konnten neben dem natürlich vorkommenden 8-Hydroxy-5-deazaflavin (Faktor 420), das als Metabolit von anaeroben methanogenen Bakterien gebildet wird [58], noch weitere modifizierte Flavoproteine entdeckt werden, für die eine funktionelle Substitution am Aromaten charakteristisch ist.

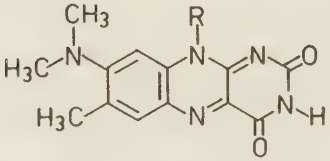
So wurde das 6-Hydroxy- und das 8-Hydroxy-Flavin aus dem Elektronen-transportierenden Protein von Megasphera elsdenii isoliert [7/8], sowie die Struktur des Roseoflavins, das in Position 8 eine Dimethylamino-Gruppe enthält, aufgeklärt [59].



6 - Hydroxyflavin



8 - Hydroxyflavin



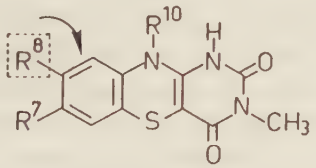
Roseoflavin

3. Problemstellung

Für das 5-Thiaflavin wird ein starker Rückgang der Oxidationsempfindlichkeit im Vergleich zum Dihydroflavin beobachtet, der sich in einem hohen $1e^-$-Potential ($Fl_{red}H/sFl^\bullet$ = +400 mV) wiederspiegelt [60].
Diese verminderte Oxidationsfähigkeit erklärt sich u.a. aus der stärkeren Winkelung des Systems.

Apoflavodoxin bindet als reine Elektronentransferase das 5-Thiaflavin zwar gut und stabilisiert auch die $1e^-$-Stufe, jedoch nicht auf dem niedrigen Potentialniveau, das für eine biologische Aktivität benötigt wird.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, in 8-Stellung Donator-substituierte 5-Thiaflavine zu synthetisieren. Durch Heteroatome ($-NR_2$, -OR bzw. -SR) ist mit einer Veränderung der Mesomeriefähigkeit des Benzothiazin-Systems zu rechnen, was u.a. auch eine Erniedrigung des Redox-Potentials zur Folge haben sollte.



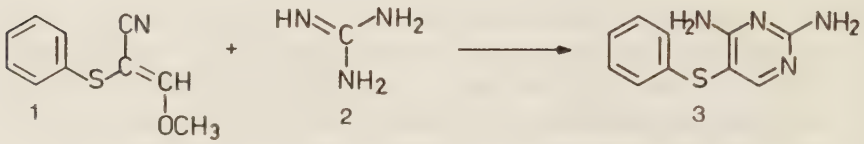
	R^7	R^8	R^{10}
a	CH_3	CH_3	C_2H_5
b	Cl	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
d	CH_3	NH_2	C_2H_5
f	CH_3	OH	C_2H_5
g	CH_3	OCH_3	C_2H_5
h	CH_3	OCH_3	CH_3

II. THEORETISCHER TEIL

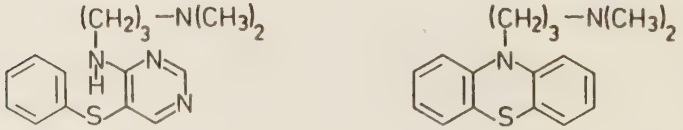
1. Bekannte Synthesen von Thia-alloxazinen und Thia-isoalloxazinen

1.1. Darstellung von Diazaphenothiazinen

Bei der Suche nach antimikrobiell bzw. antibakteriell wirksamen Substanzen beschäftigten sich FALCO et. al. [61] mit Arylthiopyrimidinen. Das Phenylmercaptopyrimidin 3 ist durch Cyclisierung von 1 mit Guanidin zugänglich.
Für 3 wurden ZNS-Wirkungen festgestellt.

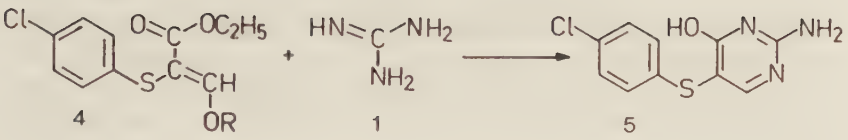


ROTH u. HITCHINGS [62] untersuchten, ob eine basisch substituierte Seitenkette unter Berücksichtigung der von Phenothiazin-Neutroleptika bekannten Struktur-Wirkungsbeziehungen einen günstigen Einfluß auf die ZNS-Aktivität der Grundstruktur 3 besitzt. 3a ist formal als offenkettiges Promazin aufzufassen.



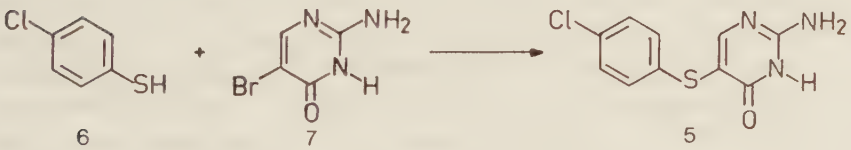
Die o.g. Autoren erarbeiteten folgende Darstellungsmethoden:

A: Kondensation von Guanidin, substituierten Guanidinen oder Thioharnstoff mit cyclisierungsfähigen α-Alkoxymethylenarylessigsäureestern 4 ergibt 5-Arylthiopyrimidine, z.B. 5.



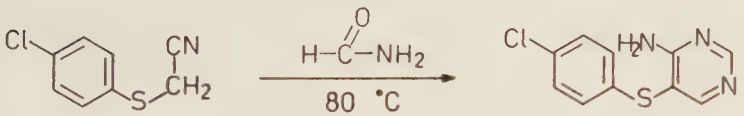
4 1 5

B: Der gleiche Strukturtyp eines 5-Arylthiopyrimidins kann auch durch nucleophile Substitution an 5-Halogen-substituierten Pyrimidinen erhalten werden. Bei der Umsetzung von 6 mit Bromisocytosin zu 5 werden jedoch zahlreiche Nebenreaktionen beobachtet.



6 7 5

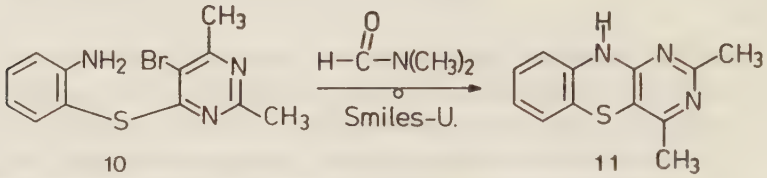
C: Pyrimidinringschluß entsprechend Arylthio-substituierter Nitrile mit Formamid ergibt, allerdings in geringer Ausbeute, ebenfalls Arylthio-substituierte Pyrimidine, z.B. 9.



8 9

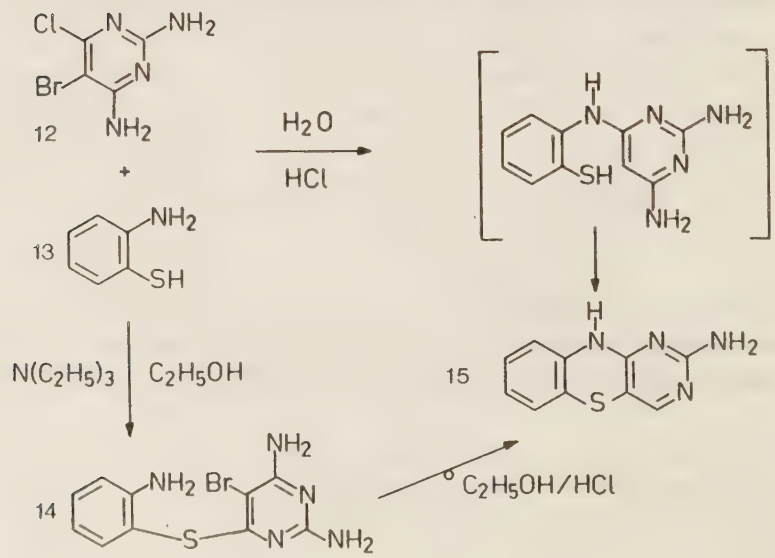
Neben nicht cyclischen Pyrimidin-Derivaten gewannen, wegen der zunehmenden Bedeutung der Phenothiazin-Neuroleptika, Untersuchungen an 2,4- bzw. 1,3-Diazaphenothiazinen an Interesse [63]

Aus 4,5-Dihalogenpyrimidinen wurden durch Reaktion der 4-Halogen-Gruppe mit o-Aminothiophenol und Cyclisierung der entstandenen 4-Arylthiopyrimidine, z.B. 10, unter Smiles-Umlagerung Pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazine, z.B. 11, hergestellt.

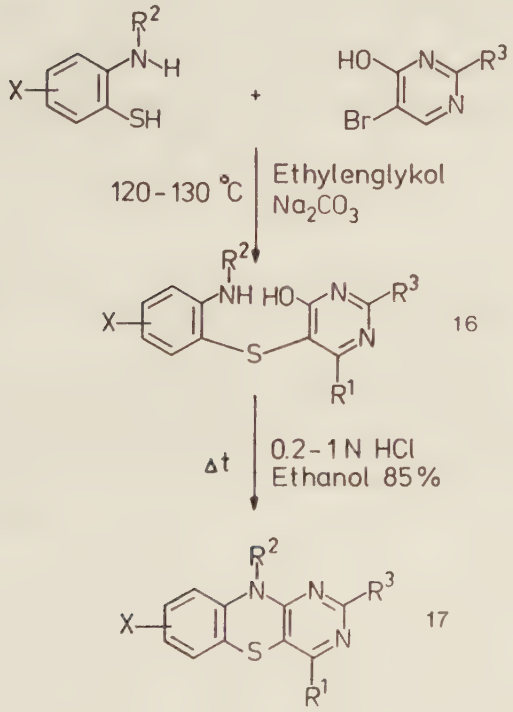


10 11

Diesen Syntheseweg aufgreifend versuchte dann PHILLIPS et. al.[64] analoge 2,4-substituierte Diazaphenothiazine zu synthetisieren. Er erzielte gute Ausbeuten bei der Reaktion von Amino-substituierten 5-Brom-6-chlor-pyrimidinen, z.B. 12, mit o-Mercaptoanilinen (13), wobei unter Säurekatalyse direkt das gewünschte Diazaphenothiazin 15 entstand, während unter alkalischen Bedingungen eine Smiles-Umlagerung des Zwischenproduktes eintrat.

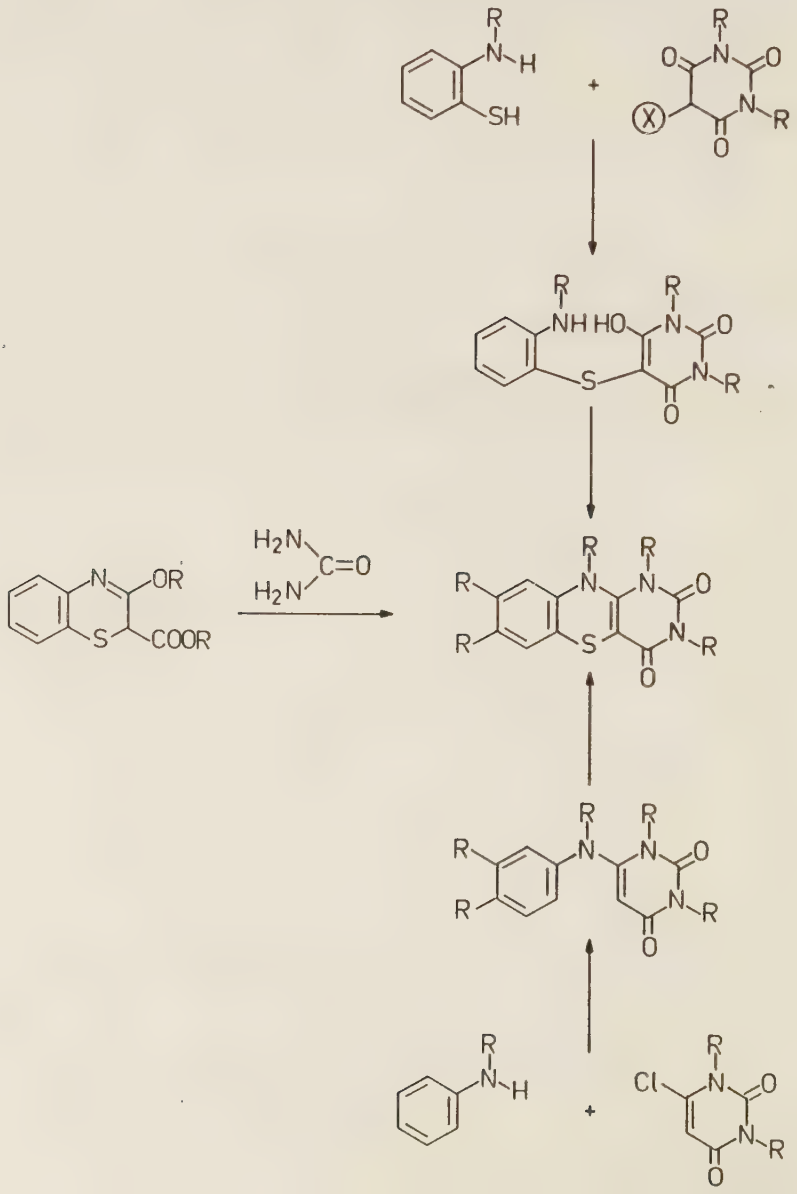


ROTH u. SCHLOEMER [65] fanden einen einfachen Weg in hohen Ausbeuten Aminoarylthio-pyrimidin-Derivate vom Typ 16 mit Substituenten in 2- und 6-Position zu synthetisieren, die wiederum leicht unter Ringschluß 10H-Pyrimido[5,4-b][1,4]-benzothiazine 17 bilden, wobei die Cyclisierungsrate abhängig vom pH-Wert ist [66/67]. So gelangten sie durch geeignete Substitution sowohl im Pyrimidinteil, als auch im Benzolkern zu 1,3-Diaza-Derivaten der Phenothiazine.



R^1 = $-CH_3$, $-OH$, $-H$; R^2 = $-CH_3$, $-nC_4H_9$, $-H$; R^3 = $-OH$, $-NH_2$, $-N$-Alkyl ; X = $-8Cl$, $-7,8CH_3$

1.2. Darstellung von 2,4-Dioxo-10H-pyimido[5,4-b][1,4]-benzothiazinen



Der Aufbau des Pyrimidobenzothiazin-Ringsystems kann nach folgenden Prinzipien vorgenommen werden:

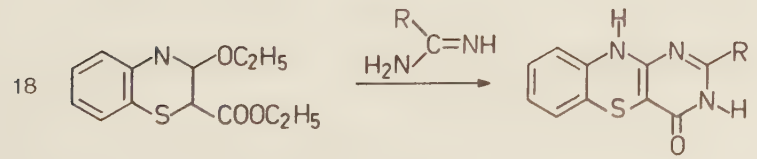
* Man erhält über eine S-Verbrückung die Cyclisierungsvorstufe und vollzieht anschließend den Ringschluß über die Amino-Gruppe.

* Ausgehend von 6-Anilinouracilen, in welchen Verknüpfung des Anilin-Derivates mit dem Pyrimidin-Ringsystem vorliegt, wird der Schwefel nachträglich unter gleichzeitiger Cyclisierung zum Pyrimidobenzothiazin eingeführt.

* Der Tricyclus wird durch Kondensation des Benzothiazin-Bicyclus mit einem Harnstoff-Derivat, unter Bildung des Pyrimidinteiles, aufgebaut.

Bisher sind verschiedene Synthese-Verfahren für Pyrimidobenzothiazin-Derivate erarbeitet worden:

- Cyclisierung von Arylthiopyrimidinen,
- Kondensation von Anilinouracilen mit Thionylchlorid
- oder die von GRANIK [68] beschriebene Kondensation von 3-Ethoxy-benzothiazin-2-carbonsäure-ethylester 18 mit Harnstoff.

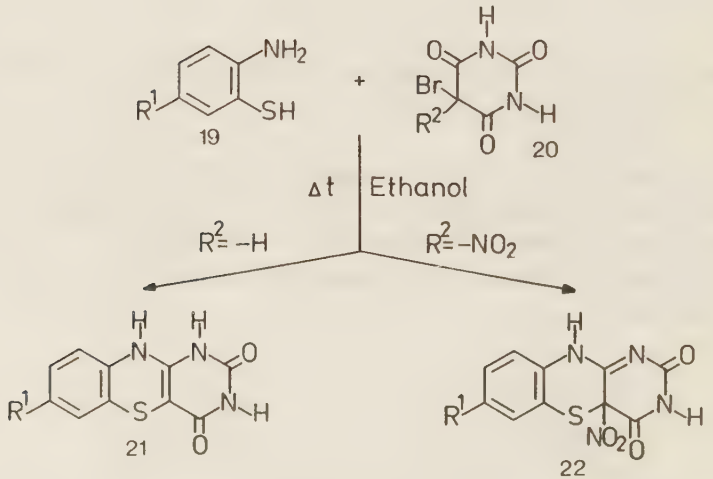


R = −OH
−NH_2
−SH

1.2.1. Cyclisierung von Arylpyrimidinen

Ausgehend von unterschiedlichen Konzeptionen bearbeiteten NARANG [69] und FENNER [70/71] das 2,4-Dioxo-10H-pyrimido-[5,4-b][1,4]benzothiazin-System:

- Da in einigen antibakteriell wirksamen Substanzen, wie z.B. dem Chloramphenicol, die Nitro-Gruppe eine wesentliche Rolle spielt, versuchte NARANG [69] durch deren Einführen in 4a-Position des Pyrimidobenzothiazins 22 einen ähnlichen Effekt zu erzielen und erhielt 21 durch Kondensation von 2-Aminothiophenolen 19 mit 5-Brom- bzw. 5-Brom-5-nitro-barbitursäuren 20.

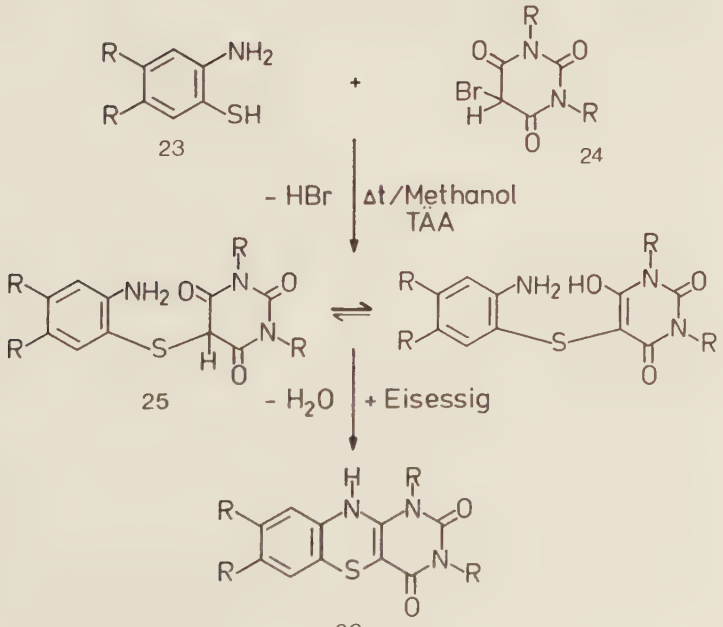


R^1 = $-OCH_3$

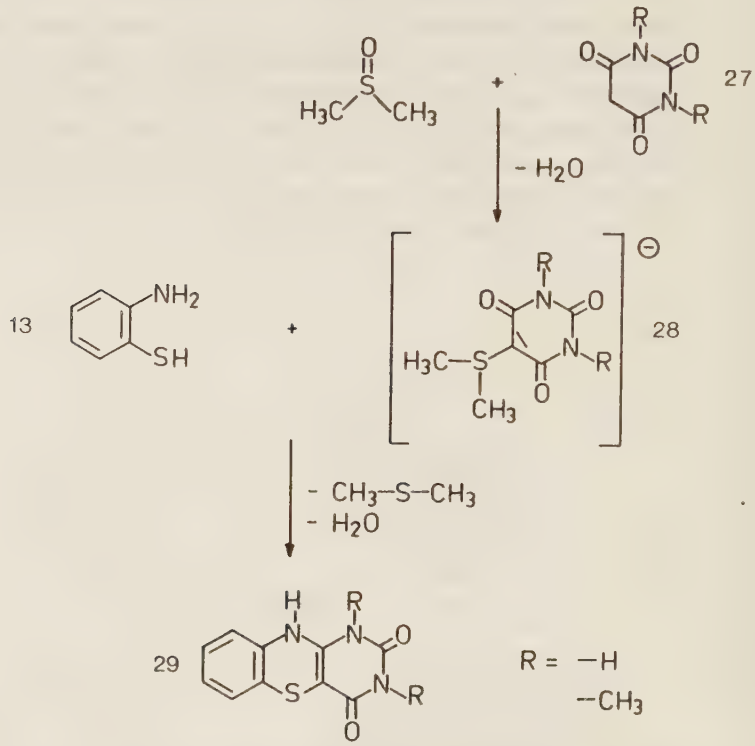
$-OC_2H_5$

FENNER [70/71] bearbeitete die Synthese von Schwefel-analogen Flavinen, um den Antimetabolitencharakter von Phenothiazin-Neuroleptika, deren möglicher Wirkungsmechanismus auf Grund vorliegender biochemisch-pharmakologischer Untersuchungen [72] in ihrer Wechselwirkung mit Flavoprotein-haltigen Redoxsystemen gesehen wurde, näher zu untersuchen.

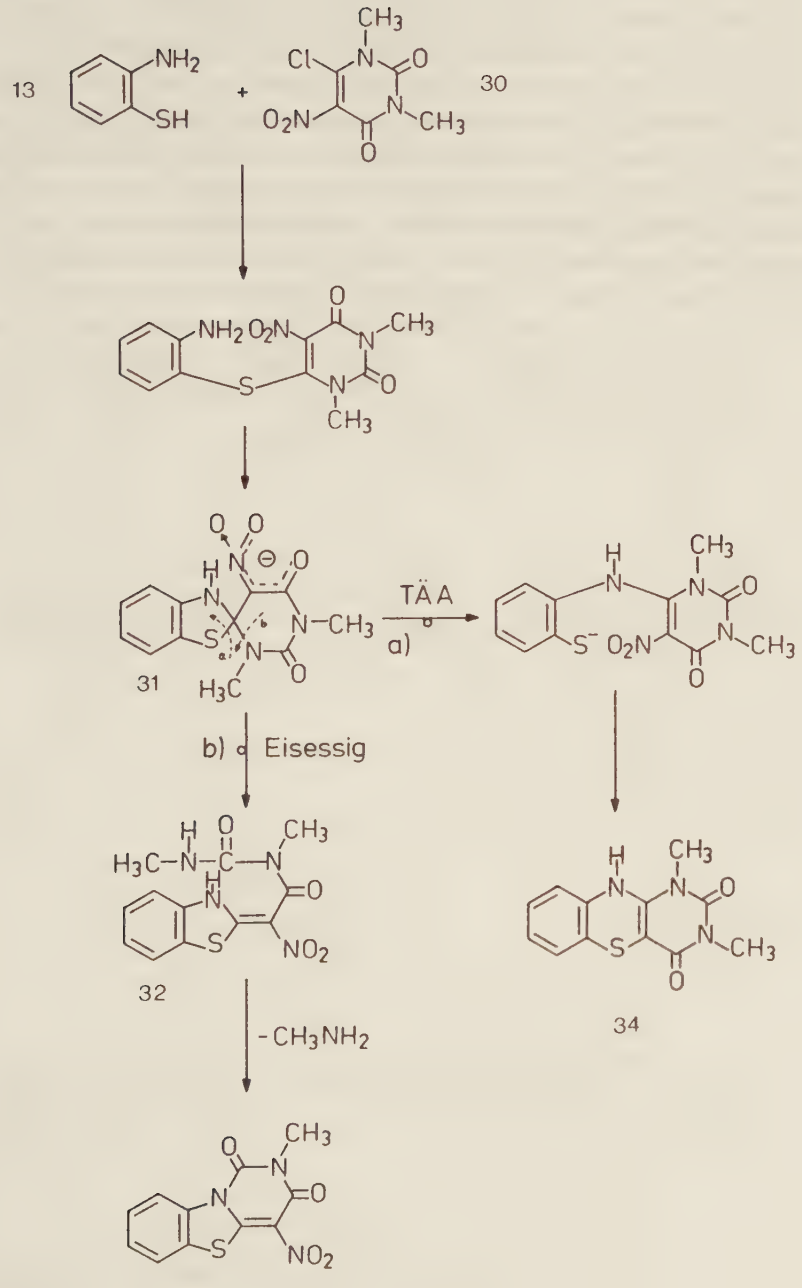
Durch rückfließendes Erhitzen von 2-Aminothiophenol, bzw. 2-Amino-4,5-dimethylthiophenol 23 mit 5-Brombarbitursäuren in Methanol und in Gegenwart von Triethylamin, erhielt er Aryl-thiopyrimidin-Derivate 25, die durch Erhitzen unter Rückfluß in Eisessig und nach Zusatz von Schwefelsäure zu den in 10-Stellung unsubstituierten 2,4-Dioxo-pyrimido-[5,4-b][1,4]benzothiazinen 27 cyclisierten.



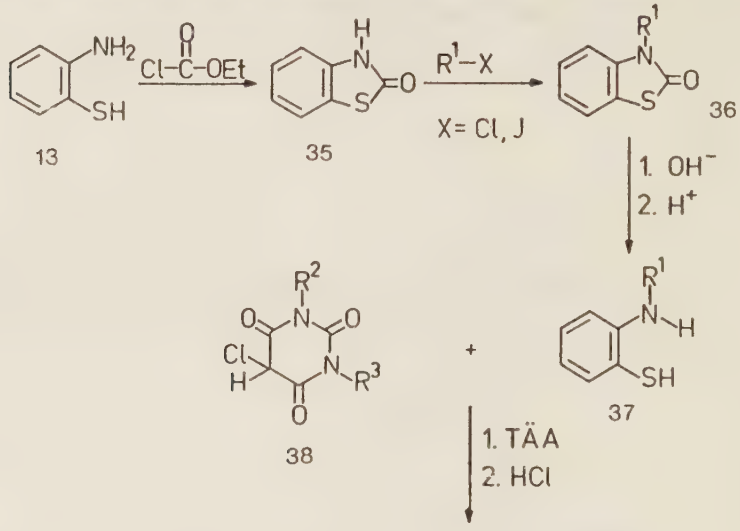
Unter Variation dieses Verfahrens gelang es später FENNER u. RÖSSLER [73-75] 5-Brombarbitursäuren durch Barbitursäureylide zu ersetzen. Rückfließendes Erhitzen von 27 mit 2-Aminothiophenol 13 in Dimethylsulfoxid führt über das intermediär gebildete Barbitursäureylid 28 direkt zu dem in 10-Stellung unsubstituierten Dioxopyrimidobenzothiazin 29.



Durch Abwandlung der Synthese von FENNER kam MAKI [76] zu dem Ergebnis, daß bei der Reaktion von 1,3-Dimethyl-5-nitro-6-chlor-uracil (30) mit 2-Aminothiophenol (13) in Benzol mit einem Überschuß an Triethylamin direkt 34 über ein Benzothiazolin-Zwischenprodukt 31 durch Smiles-Umlagerung entsteht, während in saurer Lösung im Verlauf einer Smiles-Umlagerung unter Bildung von 31 eine Uracil-Ringspaltung 32 eintritt und daraus 2-Methyl-4-nitro-pyrimido[4,3-b]benzothiazolin-1,3-(2H,10H)-dion (33) resultiert.


13
30
TÄA
a)
b) Eisessig
31
32
33
34
$-CH_3NH_2$

Um zu Isoalloxazinen- bzw. Flavin-analogen Systemen zu gelangen - also in 10-Stellung Alkyl-substituierten Tricylen - stellten FENNER u. GRAUERT [53/54/77] 2-(Alkylamino)-thiophenole 37 her, die sie durch Reaktion von 2-Aminophenolen (13) mit Chlorameisensäureester zu Benzothiazolin-2-on (35), deren Alkylierung zu 36 und nachfolgende alkalische Hydrolyse erhielten. Diese ergaben bei Kondensation mit 5-Chlorbarbitursäuren die entsprechenden Arylpyrimidyl-sulfide 39, die sauer zu 40 cyclisiert werden konnten. Durch Einführen einer ω-Dimethylaminopropylkette in 10-Position ist auf diesem Wege auch ein Strukturanaloges des Promazin [54] dargestellt worden.



13 35 36 37 38 39 40

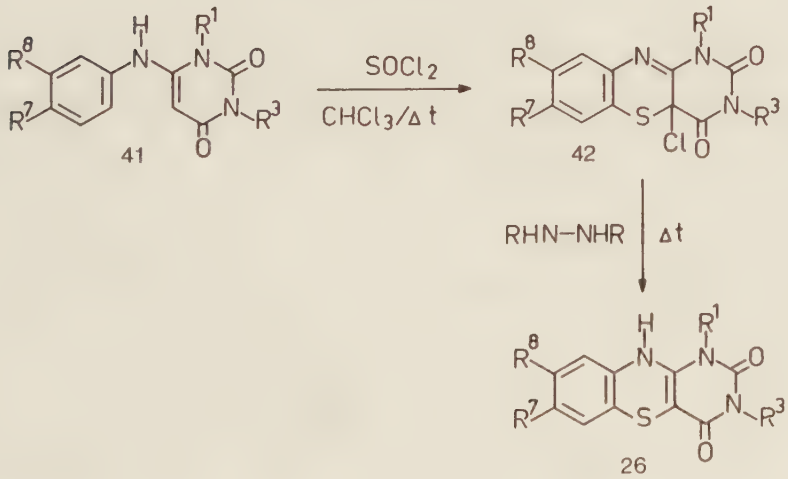
R^1= –H, $–CH_3$, $–CH_2–CH=CH_2$, $–(CH_2)_3–N(CH_3)_2$

R^2= –H, $–CH_3$

R^3= –H, $–CH_3$

1.2.2. Kondensation von Anilinouracilen mit Thionylchlorid

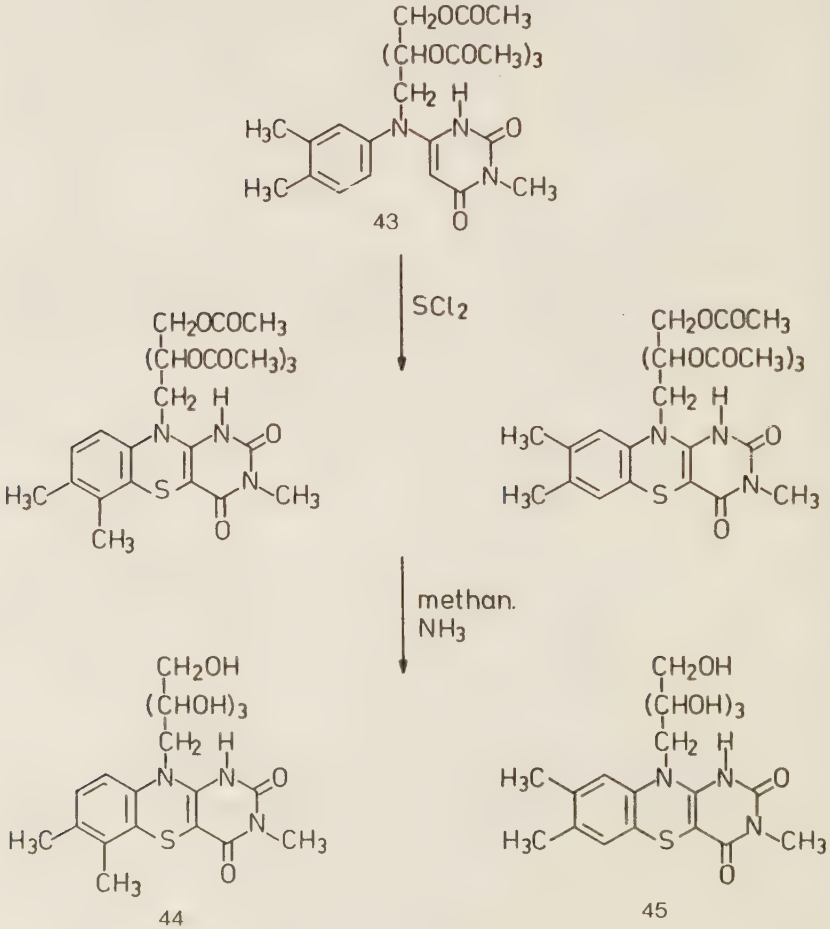
In einem Patent beschrieb GOLDMAN [78] ein Verfahren, um 2,4-Dioxo-pyrimidobenzothiazine 26 herzustellen. Die durch Cyclisierung von 6-Anilinouracilen 41 mit Thionylchlorid in der Siedehitze in inerten, sauerstoff- und wasserfreien Lösungsmitteln erhaltenen 4a-Cl-Benzothiazine 42 dienten ihm als Ausgangsmaterial um Alkyl-, Hydroxy-, Amino-, Alkylamino- und Alkylsulfido-Gruppen in 4a-Position einzuführen. Aus 42 entstehen durch Reduktion mit Hydrazin-Derivaten die Thia-Alloxazine 26.



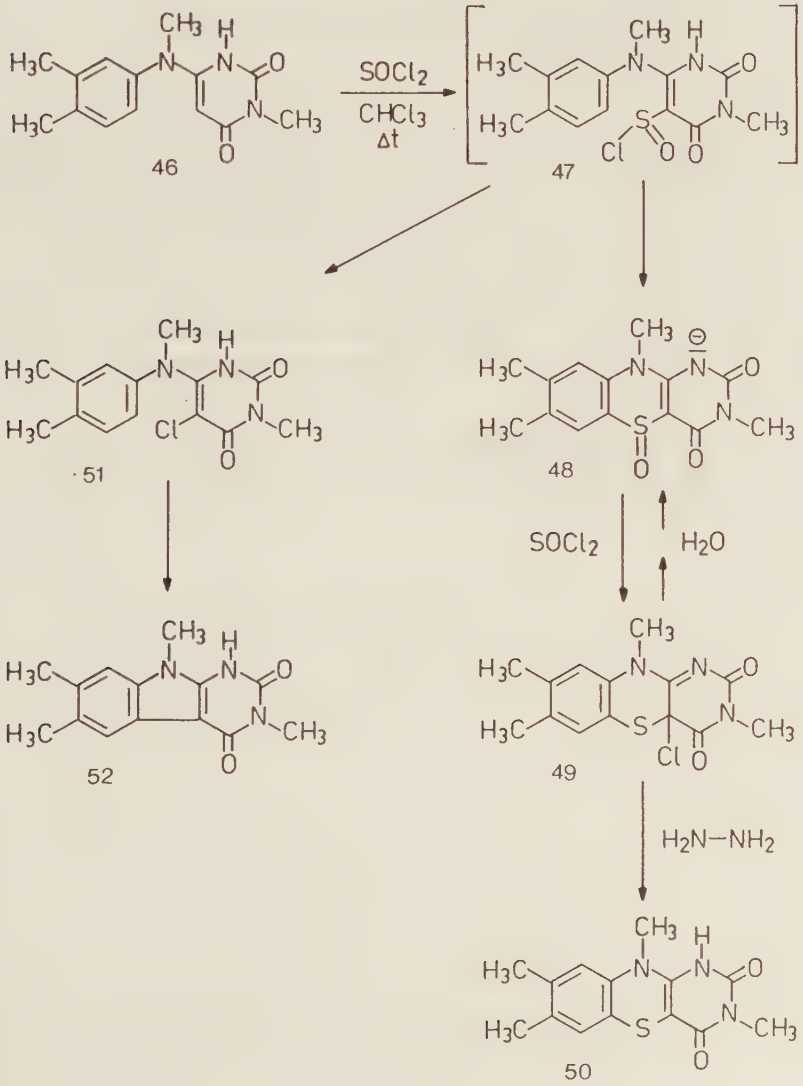
41 42 26

Verschiedene Vertreter dieser Substanzklassen haben entzündungshemmende Wirkungen, andere sind Hemmstoffe der Posphodiesterase.

JANDA u. HEMMERICH [35] - in Zusammenarbeit mit FENNER und GRAUERT - gelang die Darstellung des dem Riboflavin entsprechenden 10-Ribityl-thiaflavins durch Acetylierung von Ribityl-xylidino-uracil zu 43 und anschließender Behandlung mit SCl_2. Nach Desacetylierung in gesättigter methanolischer Ammoniaklösung erhielten sie ein Isomerengemisch von 7,8-(44) und 6.9-Dimethyl-10-ribityl-thiaflavin 45, dessen Trennung durch fraktionierte Kristallisation möglich war.



In Anlehnung an die von GOLDMAN [78] beschriebene Methode, erhielten FENNER u. TESSENDORF [79-81] 10-Alkyl-2,4-dioxo-pyrimidobenzothiazine 50, indem sie 6-Anilinouracil-Derivate 46 mit Thionylchlorid umsetzten und die dabei entstandenen 4a-Cl-Pyrimidobenzothiazine 49 mit Hydrazin reduzierten. Als Nebenprodukt entsteht das Pyrimido[4,5-b]indol 52.



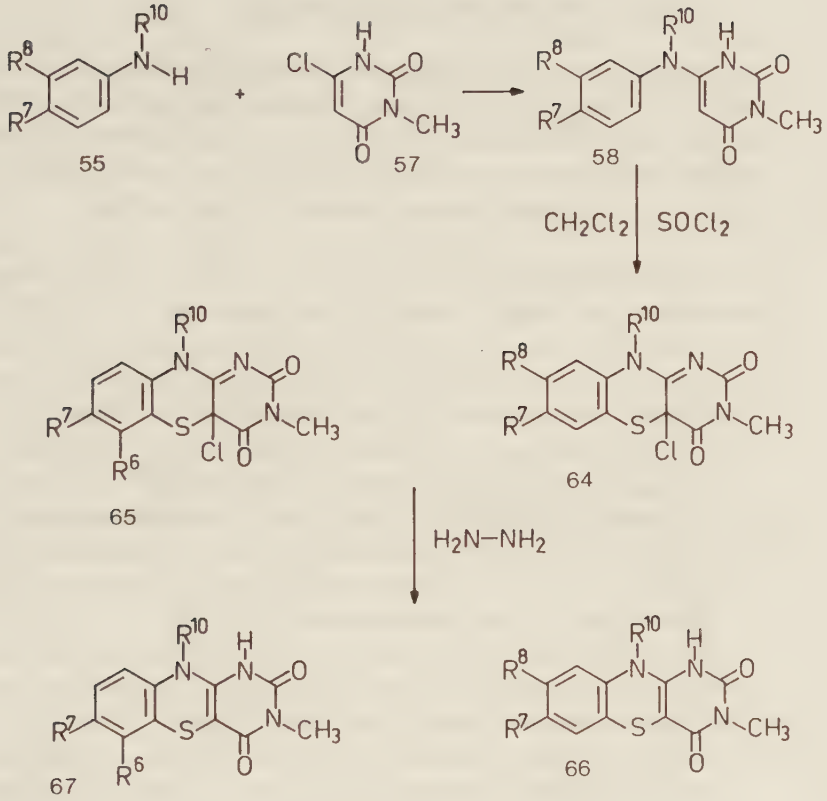
Das gezielte Einführen von Donator-Substituenten in 8-Position des Pyrimido-benzothiazins sollte Ziel der vorliegenden Arbeit sein, zumal dieser Aspekt bei den bisher bekannten Darstellungsmethoden nicht berücksichtigt wurde.

2. Darstellung von 8-Donator-substituierten 5-Thiaflavinen

Die Synthese von Thia-Isoalloxazin-Derivaten, die in 8-Position Elektronendonatoren besitzen, verläuft über das Zusammenschmelzen entsprechend substituierter Aniline 55 mit 3-Methyl-6-chloruracil (57) zu N-Alkyl-3'-substituierten 6-Anilinouracilen 58, die mit Thionylchlorid analog FENNER u. TESSENDORF [79-81] zu 4a-Cl-Thiaflavinen 64/65 cyclisiert und anschließend mit Hydrazinhydrat reduziert werden.

Man erhält abhängig vom 8-ständigen Substituenten das 7,8-modifizierte 5-Thiaflavin 66 oder darüber hinaus sein 6,7-Isomeres 67.

Zusätzlich wurde als Vergleichssubstanz das Lumiflavin-10-Ethyl-3,7,8-trimethyl-thiaflavin 66a hergestellt.



		R^7	$R^6 = R^8$	R^{10}
66	a	CH_3	CH_3	C_2H_5
66	b	Cl	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
66,67	c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
66,67	d	CH_3	NH_2	C_2H_5
66,67	f	CH_3	OH	C_2H_5
66	g	CH_3	OCH_3	C_2H_5
66	h	CH_3	OCH_3	CH_3

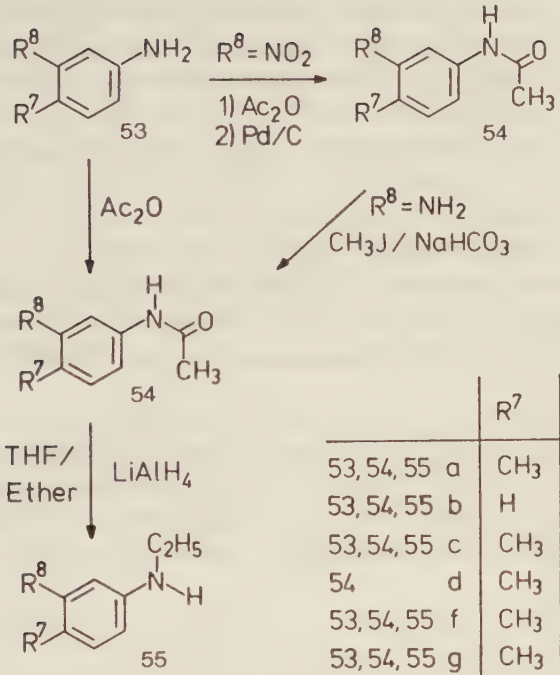
Aus Übersichtsgründen werden die Substituenten der Vorstufen entsprechend der späteren Position im Thiaflavinsystem als R^7, R^8 bzw. R^6 und R^{10} bezeichnet

2.1. Synthese der N-Alkylaniline

Es erwies sich als vorteilhaft, die Einführung der später in der 8-Position des 2,4-Dioxopyrimidobenzothiazins gewünschten Substituenten schon bei der Synthese der Alkylaniline vorzunehmen. So können Nebenreaktionen, die bei nachträglicher Substitution auftreten können, ausgeschlossen werden.

Es werden drei prinzipielle Reaktionswege für die Darstellung von m-Donator-substituierten N-Alkylanilinen untersucht:

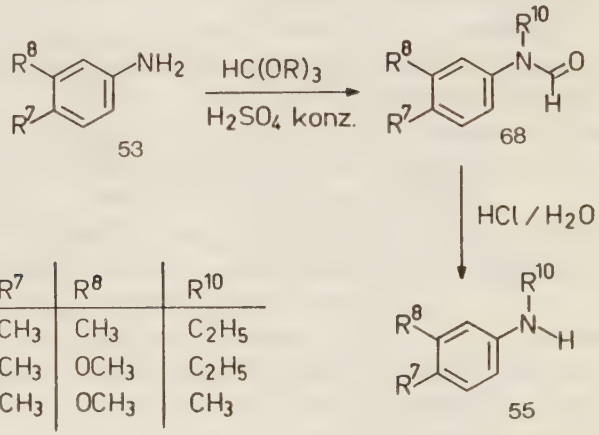
I) Die Verbindungen 55a, 55b, 55c, 55f und 55g werden präparativ durch Reduktion der jeweiligen Acetamide 54 mit $LiAlH_4$ in Diethylether oder Tetrahydrofuran gewonnen. Das korrespondierende Acetamid wird vorsichtig einer Suspension des $LiAlH_4$ in dem jeweiligen Lösungsmittel zugesetzt und nach mehrstündigem rückfließenden Erhitzen durch Extraktion mit Diethylether oder Essigsäureethylester isoliert und aufgearbeitet.
Die durch Acetylieren von 3,4-Dimethylanilin (mit Acetanhydrid/Wasser) erhaltene Verbindung 54a kann sofort zu 55a nach obiger Methode umgesetzt werden.
Um 54b und 54c einsetzen zu können, müssen die entsprechenden Ausgangsverbindungen 53j und 53i erst zu 54j und 54i acetyliert werden, dann mit Palladium/Kohle hydriert werden, was zur Bildung von 54d und 54k führt. Anschließend liefert die Alkylierung mit Methyljodid in einem Ethanol/Wasser-Gemisch unter Zusatz von Natriumhydrogencarbonat 54b und 54c, die dann mit $LiAlH_4$ zu 55b und 55c reduziert werden.
Aus 2-Methyl-5-nitrophenol, das man durch Diazotieren und und Verkochen von 2-Amino-4-nitrotoluol gewinnt, erhält man entweder nach Reduktion der Nitro-Gruppe die Verbindung 53f, die mit Acetanhydrid zu 54f acetyliert und anschließend zu 55f reduziert wird. Oder man verfährt in der Reihenfolge: Alkylieren der phenolischen OH-Gruppe mit Dimethylsufat in 10%iger Natronlauge, Reduktion zu 53g, Acetylierung und Reduktion zu 55g.



		R^7	R^8
53, 54, 55	a	CH_3	CH_3
53, 54, 55	b	H	$N(CH_3)_2$
53, 54, 55	c	CH_3	$N(CH_3)_2$
54	d	CH_3	NH_2
53, 54, 55	f	CH_3	OH
53, 54, 55	g	CH_3	OCH_3
53, 54	i	CH_3	NO_2
53, 54	j	H	NO_2
54	k	H	NH_2

Aus Übersichtsgründen werden die Substituenten der Vorstufen entsprechend der späteren Position im Thiaflavinsystem als R^7 bzw. R^8 bezeichnet

II) Die Umsetzung der entsprechenden substituierten Aniline mit o-Ameisensäuretriethyl- bzw. trimethylester (bei Verbindung 55h) unter Zugabe von konzentrierter Schwefelsäure führt über eine Chapman-Umlagerung [82/83] zur Bildung von N-Alkylformaniliden (68). Durch saure Hydrolyse wird anschließend die Formyl-Gruppe abgespalten und man erhält das gewünschte N-Alkylanilin vom Typ 55.
Die Umsetzung von 3-Methoxy-4-methylanilin mit o-Ameisensäuretrimethylester führt zur Bildung von 55h.
Die Verbindungen 55a und 55g kann man auch nach dieser Methode, alternativ zu Syntheseweg I, durch Reaktion von 53a und 53g mit o-Ameisensäuretriethylester erhalten.



53,55	R^7	R^8	R^{10}
a*	CH_3	CH_3	C_2H_5
g*	CH_3	OCH_3	C_2H_5
h**	CH_3	OCH_3	CH_3

*) R = C_2H_5

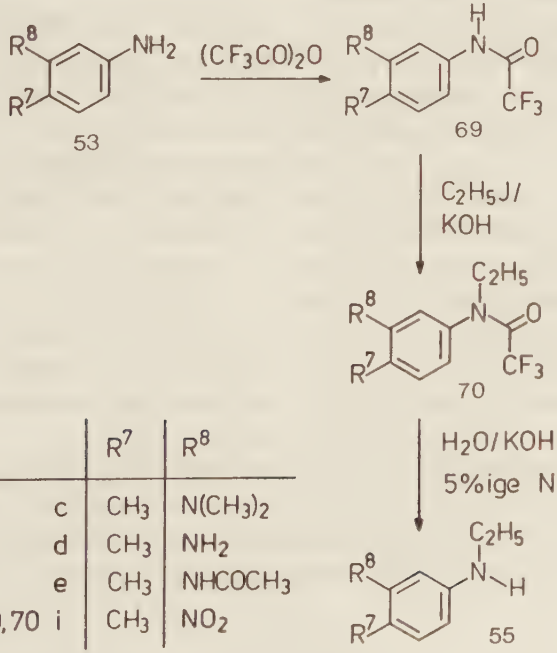
**) R = CH_3

Der Syntheseweg II kann gewählt werden, wenn das als Zwischenprodukt auftretende N-Alkylfomanilid flüssig ist, da nur dann die für die Chapman-Umlagerung erforderlichen gleichmäßig hohen Temperaturen erreicht werden. Dieser Darstellungsweg ist jedoch eine elegante Methode in einem "Eintopfverfahren" und in hohen Ausbeuten zu N-Alkylanilinen zu gelangen und den Synthesewegen I und III vorzuziehen, zumal der Einsatz von $LiAlH_4$ bei der Umsetzung nach I vermieden werden kann.

III) Die umzusetzenden Aniline werden mit Trifluoressigsäureanhydrid acyliert und erhalten dadurch dank des elektronenziehenden Effektes der Trifluoracetyl-Gruppe die für eine Alkylierung mit Ethyljodid erforderliche N-H-Acidität [84]. Die anschließende alkalische Hydrolyse führt zur Bildung der substituierten N-Alkylaniline 55.

Aus 53i erhält man durch Trifluoracetylierung das Anilid 69i, das mit Ethyljodid alkyliert und anschließend ententweder zu 55i hydrolysiert wird oder dessen Nitro-Gruppe in die primäre Amino-Gruppe mit Palladium/Kohle/H_2 überführt wird.

Aus dieser Verbindung ist einerseits durch Acetylierung und vorsichtiger Hydrolyse mit 5%iger Natronlauge 55e zugänglich, andererseits kann durch Alkylierung mit Methyljodid - in Gegenwart von Natriumhydrogencarbonat - und anschließende Hydrolyse 55c hergestellt werden.



53 69 70 55

		R^7	R^8
55,70	c	CH_3	$N(CH_3)_2$
70	d	CH_3	NH_2
55,70	e	CH_3	$NHCOCH_3$
53,55,69,70	i	CH_3	NO_2

2.1.1. Spektrale Daten der Anilide 54, 69 und 70, sowie der Anilin-Derivate 55

In den ^{1}H-NMR-Spektren lassen sich die drei aromatischen Protonen-Signale der N-Alkylaniline und der Acetanilide eindeutig zuordnen:

* Das C-6-Proton erscheint als Doppeldublett. Es bildet zum einen mit dem C-5-Proton ein AB-System mit einer für eine o-Kopplung charakteristischen Kopplungskonstanten von J = 8 Hz und zum anderen mit dem C-2-Proton ebenfalls ein AB-System mit der für die m-Kopplung typischen Konstanten von J = 2 Hz. Dementsprechend kann man für das C-5-Proton ein Dublett vorfinden (J = 8 Hz). Das C-2-Proton wird gleichfalls als Dublett mit einer Kopplungskonstanten von J = 2 Hz registriert.
* Abhängig von dem Substituenten in 3-Position, erfahren die o-, m- und p-Protonen eine Verschiebung nach tieferem Feld, was z.B. durch die Nitro-Gruppe der Verbindung 54i bewirkt wird, oder nach höherem Feld, wie bei 54f, bedingt durch die phenolische OH-Gruppe.
* Auch zeigen die ^{1}H-NMR-Spektren der N-Ethylanilin-Derivate deutlich die Protonen-Signale der Ethyl-Gruppe. Die Protonen der Methyl-Gruppe koppeln mit den beiden benachbarten, chemisch äquivalenten Methylenprotonen und liefern ein Triplett bei etwa 1.1. ppm, wobei man eine Kopplungskonstante von J = 7 Hz findet; dabei treten die dem elektronegativeren Stickstoff benachbarten Methylenprotonen bei tieferem Feld in Form eines Quartetts bei etwa 3.0 ppm auf, ebenfalls mit einer Kopplungskonstanten von J = 7 Hz.
* Im Falle der N-Ethyl-trifluoracetanilide bewirkt die hohe Elektronegativität der Trifluoracetyl-Gruppe eine paramagnetische Verschiebung der Methylenprotonenresonanzen. So erscheint das Quartett bei etwa 3.7 ppm.
* Vergleicht man das ^{1}H-NMR-Spektrum von 55e mit dem von 70e (Abbildung 1 und 2), so zeigt sich, daß sämtliche Protonen-Signale der Verbindung 70e in deutlich tieferem Feld in Resonanz treten (Vergleiche Tabelle 1).

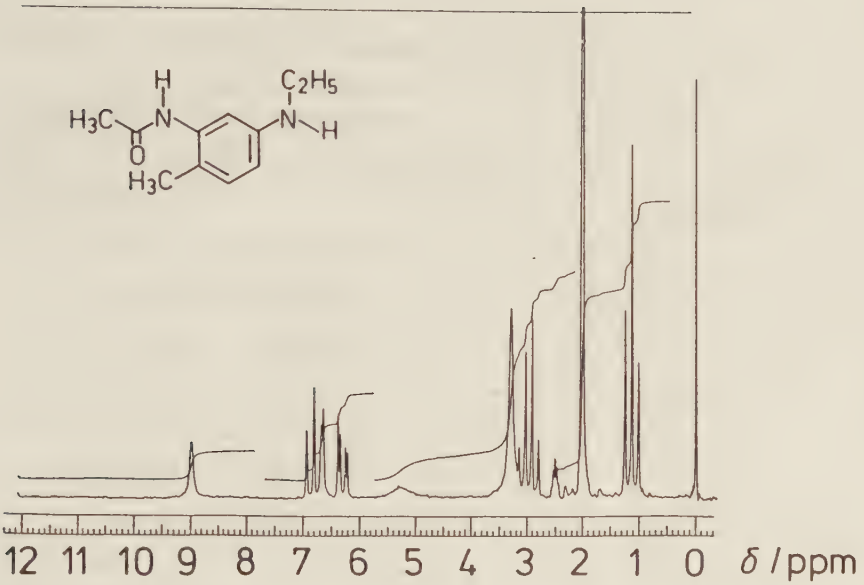


Abb. 1: ^{1}H-NMR-Spektrum von 55e in (D_6)DMSO

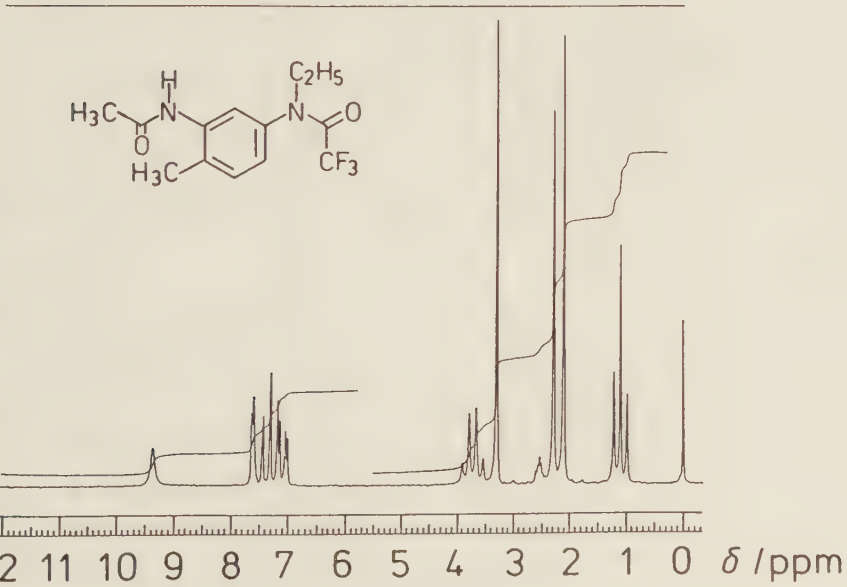


Abb. 2: ^{1}H-NMR-Spektrum von 70e in (D_6)DMSO

Tabelle 1: ^{1}H-NMR-Daten der Verbindungen 54, 69 und 55

Verbindung	Substituenten R^7	R^8	R^{10}	Lösungsmittel	^{1}H-NMR-Signale (δ-Werte) der Protonen $COCH_3$	2-H	5-H	6-H	4-R	1-NH	$-CH_2-CH_3$
Acetanilide 54											
a	CH_3	CH_3	H	$DMSO_{d6}$	2.00	7.34	6.87	7.29	2.21	9.65	——
b	H	$N(CH_3)_2$	H	"	2.01	6.97	7.09	6.4u.6.87		9.75	——
c	CH_3	$N(CH_3)_2$	H	"	2.01	7.27	7.02	7.14	2.18	9.79	——
d	CH_3	NH_2	H	"	1.97	6.94	6.78	6.64	1.97	9.55	——
f	CH_3	OH	H	"	2.04	7.26	6.98	6.81	2.09	9.67	——
g	CH_3	OCH_3	H	"	2.01	—6.99-7.25m—			2.09	9.89	——
i	H	NO_2	H	"	2.11	8.61	7.56	7.90	7.90	10.39	——
j	CH_3	NO_2	H	"	2.07	8.34	7.38	7.71	2.46	10.25	——
Trifluoracetanilid 69											
i	CH_3	NO_2	H	"	——	8.38	7.52	7.91	2.52	11.68	——
N-Alkyl-Trifluoracetanilide 70											
c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	"	——	7.16	7.27	7.02	2.31	——	1.09t 3.71q
d	CH_3	NH_2	C_2H_5	"	——	6,51	6.98	6.39	2.07	——	1.08t 3.65q
e	CH_3	$NHCOCH_3$	C_2H_5	"	——	7.54	7.31	7.08	2.25	——	1.09t 3.70q
i	CH_3	NO_2	C_2H_5	"	——	8.14	7.64	7.73	2.55	——	1.08t 3.75q
N-Alkylaniline 55											
a	CH_3	CH_3	C_2H_5	"	——	6.36	6.82	6.27	2.06	5.00	1.14t 2.98q
b	H	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	$CDCl_3$	——	6.19	7.04	6.00	6.00	4.57	1.21t 3.14q
c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	$DMSO_{d6}$	——	6.26	6.81	6.16	2.09	5.16	1.13t 2.97q
e	CH_3	$NHCOCH_3$	C_2H_5	"	——	6.66	6.87	6.29	2.02	5.25	1.13t 2.98q
f	CH_3	OH	C_2H_5	"	——	6.07	6.74	5.95	1.99	5.10	1.16t 3.00q
g	CH_3	OCH_3	C_2H_5	"	——	6.18	6.79	6.03	1.98	5.33	1.14t 3.02q
h	CH_3	OCH_3	CH_3	$CDCl_3$	——	6.19	6.86	6.05	2.10	3.42	CH_3= 2.80
i	CH_3	NO_2	C_2H_5	$DMSO_{d6}$	——	7.08	7.16	6.82	2.33	6.05	1.16t 3.05q

Tabelle 2: IR-Absorptionen [cm^{-1}] der Verbindungen 54, 69 und 55

Verbindung	Substituenten in Position R^7	R^8	R^{10}	IR-Absorptionen in Wellenzahlen [cm^{-1}] N-H	C=O	R^8
Acetanilide 54						
a	CH_3	CH_3	H	3300, 1540	1660	2970, 2925
b	H	$N(CH_3)_2$	H	3426, 1555	1658	2893, 2807
c	CH_3	$N(CH_3)_2$	H	3290, 1565	1665	2830, 2795
d	CH_3	NH_2	H	3240, 1550	1665	3410, 3320, 1620
f	CH_3	OH	H	3300, 1560	1660	3200, 1420
g	CH_3	OCH_3	H	3289, 1549	1659	2919
i	H	NO_2	H	3300, 1530	1670	1550, 1320
j	CH_3	NO_2	H	3310, 1530	1675	1540, 1325
Trifluoracetanilid 69						
i	CH_3	NO_2	H	3350, 1530	1725	1545, 1340
N-Alkyl-Trifluoracetanilide 70						
c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	----	1696	2831, 2788
d	CH_3	NH_2	C_2H_5	----	1690	3490, 3410, 1625
e	CH_3	$NHCOCH_3$	C_2H_5	----	1695	3290, 1665, 1540
i	CH_3	NO_2	C_2H_5	----	1690	1535, 1355
N-Alkylaniline 55						
a	CH_3	CH_3	C_2H_5	3420, 1580	----	2880
b	H	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	3410, 1580	----	2860
c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	3420, 1580	----	2870, 2830
e	CH_3	$NHCOCH_3$	C_2H_5	3260, 1545	----	3350, 1675, 1625
f	CH_3	OH	C_2H_5	3280, 1620	----	3080, 1420
g	CH_3	OCH_3	C_2H_5	3420, 1590	----	2850
h	CH_3	OCH_3	CH_3	3430, 1585	----	2855
i	CH_3	NO_2	C_2H_5	3410, 1625	----	1530, 1330

In den IR-Spektren findet man die typischen Wellenzahlen (Tab. 2) der N-H- und C=O- Schwingungen.
Bei den Trifluor- und Ethyl-trifluoracetaniliden bewirkt die α-Trifluorierung eine Verschiebung der Carbonyl-schwingungen zu höheren Wellenzahlen.

Die Massenspektren der hier behandelten Verbindungen zeigen die typische Fragmentierung substituierter aromatischer Verbindungen, d.h. relativ wenig Fragmente und ein intensives Molekülion werden beobachtet (Abb. 3).

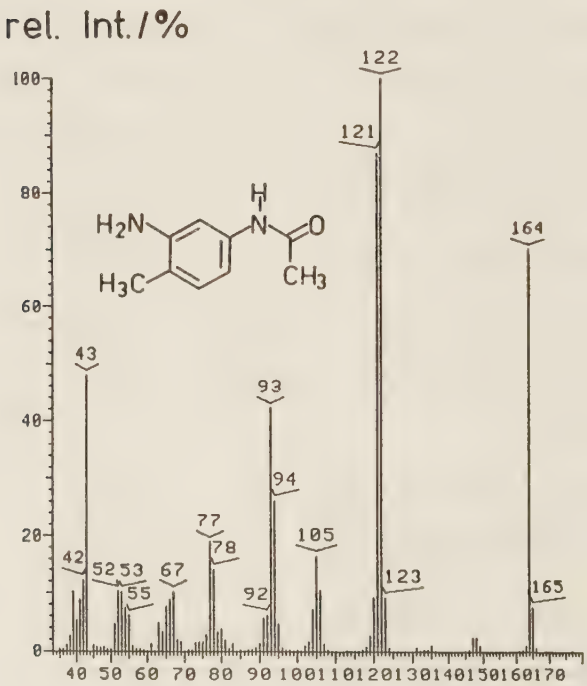
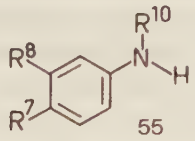


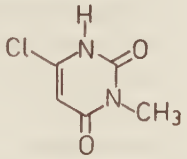
Abb. 3: Massenspektrum von 54d

2.2. Synthese Donator-substituierter 6-Anilinouracile (58)

Die m-substituierten Anilinouracil-Derivate 58 werden in Anlehnung an YONEDA [85] durch Kondensation der N-Alkylaniline (55) mit 6-Chlor-3-methyluracil (57) hergestellt. 57 wird nach NÜBEL u. PFLEIDERER [86] durch Chlorierung von 3-Methylbarbitursäure in 6-Position mit Phosporylchlorid in Gegenwart von 4% Wasser erhalten.

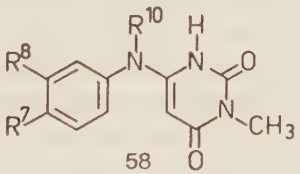


55



57

55,58	R^7	R^8	R^{10}
a	CH_3	CH_3	C_2H_5
b	H	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
d	CH_3	NH_2	C_2H_5
e	CH_3	$NHCOCH_3$	C_2H_5
f	CH_3	OH	C_2H_5
g	CH_3	OCH_3	C_2H_5
h	CH_3	OCH_3	CH_3
i	CH_3	NO_2	C_2H_5



58

58a-c und 58e-h entstehen bereits nach dreißig Minuten durch Zusammenschmelzen von drei Teilen 55a-c bzw. 55e-h und einem Teil 57 bei einer Temperatur von 145 °C. Durch das Substitutionsmuster wird demnach die Bildung des Anilinouracils derart begünstigt, daß relativ milde Reaktionsbedingungen ausreichen.

Nachdem das überschüssige Amin durch Extraktion mit Diethylether aus der alkalischen Lösung der Schmelze (ausgenommen 58f) zurückgewonnen wurde, lassen sich die Verbindungen 58a-c und 58e,g u.h durch Neutralisieren der wässrigen Lösung in Form eines kristallinen Niederschlages isolieren und durch Umkristallisieren reinigen.
Die Aufarbeitung von 58f erfolgt durch Extraktion des Überschußes von 55f mit Essigsäureethylester, wobei 58f als unlöslicher Rückstand verbleibt, der durch Umkristallisieren mit Ethanol farblose Kristalle bildet.
Die Verbindung 58d kann nicht direkt durch Umsetzung von 3-Amino-N-ethyl-4-methylanilin mit 3-Methyl-6-chloruracil synthetisiert werden, weil als Konkurrenzreaktion infolge einer nucleophilen Substitution auch Kondensation des primären Amines in 3'-Position mit 57 erfolgen kann.
Um dies auszuschließen, wird die 3'-Amino-Gruppe durch Acetylierung geschützt und auf üblichem Wege 58e hergestellt. Anschließend erhält man durch alkalische Hydrolyse das gewünschte Amino-Derivat 58d.

Eine weitere Möglichkeit das 3'-Aminoprodukt herzustellen besteht darin, die Nitro-Gruppe der Verbindung 58i zum primären Amin zu reduzieren.
Die Darstellung des 3'-Nitro-anilinouracils erfordert jedoch eine geringfügig höhere Reaktionstemperatur (147 ^{o}C) und eine erheblich längere Reaktionszeit (4,5 Stunden). Auch muß ein sechsfacher Überschuß an Alkylamin eingesetzt werden, weil die Reaktion nur sehr unvollständig und unter Bildung vieler Nebenprodukte erfolgt. Die Isolierung des 3'-Nitro-anilinouracils ist nur säulenchromatographisch möglich.

2.2.1. Spektrale Daten von 58

Die ^{1}H-NMR-Spektren (Abb. 4-6) der Anilinouracile im Deuterodimethylsulfoxid zeigen deutlich die Protonensignale der Ethyl-Gruppe, die durch Resonanz in ein Triplett bei etwa 1.1 ppm und ein Quartett bei etwa 3.7 ppm aufspalten.

Ferner erscheint bei etwa 2.2 ppm das Signal der an das benzoide Molekülfragment gebundenen Methylprotonen, während die an das Stickstoffatom in 3-Stellung gebundenen Methylprotonen noch um etwa 0.4 ppm gegenüber den Resonanzen der Methylprotonen in Position 3' der Verbindungen 58b und 58c, die ein Singulett bei etwa 2.7 ppm hervorrufen, paramagnetisch verschoben sind.

Für die in 3'-Position vorhandenen Methoxyprotonen der Verbindungen 58g und 58h findet man ein Singulett bei etwa 3.8 ppm.

Das C-5-Proton im Uracil-Teil bildet ein Singulett bei 4.3 - 5.0 ppm und ist abhängig vom Substituenten in 3'-Stellung nach tieferem oder höherem Feld verschoben.

Die aromatischen Protonen H-2', H-5' und H-6' zeigen die zu erwartenden Resonanzen. So findet man für das C-6'-Proton ein Doppeldublett mit den Kopplungskonstanten J = 2 Hz und 8 Hz in höherem Feld bei etwa 6.7 ppm, für das C-2'-Proton ein Dublett bei etwa 7.0 ppm mit der für m-Kopplungen typischen Konstanten von J = 2 Hz und schließlich ebenfalls ein Dublett in tiefem Feld bei etwa 7.2 ppm, erzeugt durch das C-5'-Proton mit der Kopplungskonstanten von J = 8 Hz.

Die 1-NH-Protonen zeigen bei etwa 10.3 ppm ihre charakteristischen breiten Resonanzsignale ebenso, wie die OH-Gruppe der Verbindung 58f, deren ppm-Wert bei 9.6 liegt.

Die Acetamino-Gruppe in 3'-Position der Verbindung 58e liefert ein breites Protonensignal bei 9.3 ppm, das von dem

an das Stickstoff-Atom gebundenen Proton hervorgerufen wird, sowie ein Singulett dreier Protonen bei 2.1 ppm, das der Methyl-Gruppe zuzuschreiben ist.

Die beiden Protonen der Amino-Grupe in 3'-Stellung der Verbindung 58d sind mit Deuterium austauschbar - genau wie alle anderen sauren Protonen der hier besprochenen Verbindungen - und geben bei 5.0 ppm ein breites Resonanzsignal

Bedingt durch die Nitro-Gruppe in 3'-Position der Verbindung 58i erfolgt eine Resonanz-Verschiebung der aromatischen Protonen nach tieferem Feld (Tab. 3).

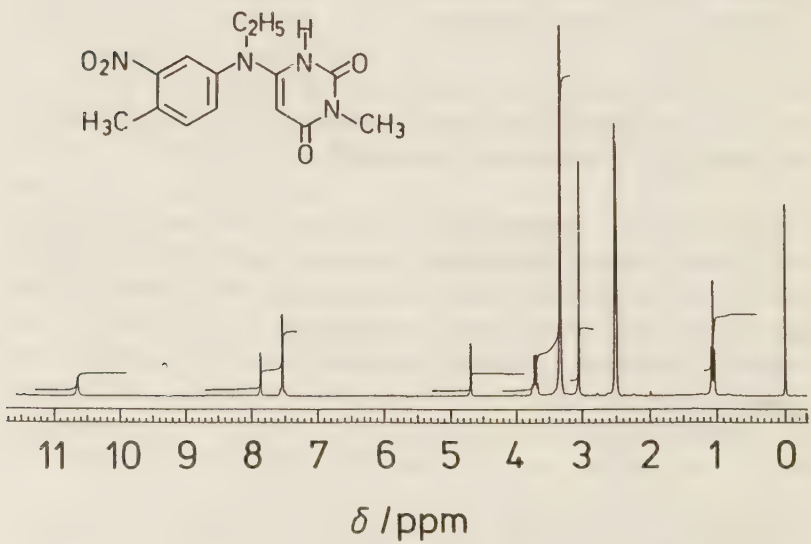


Abb. 4: ^{1}H-NMR-Spektrum von 58i in (D_6)DMSO

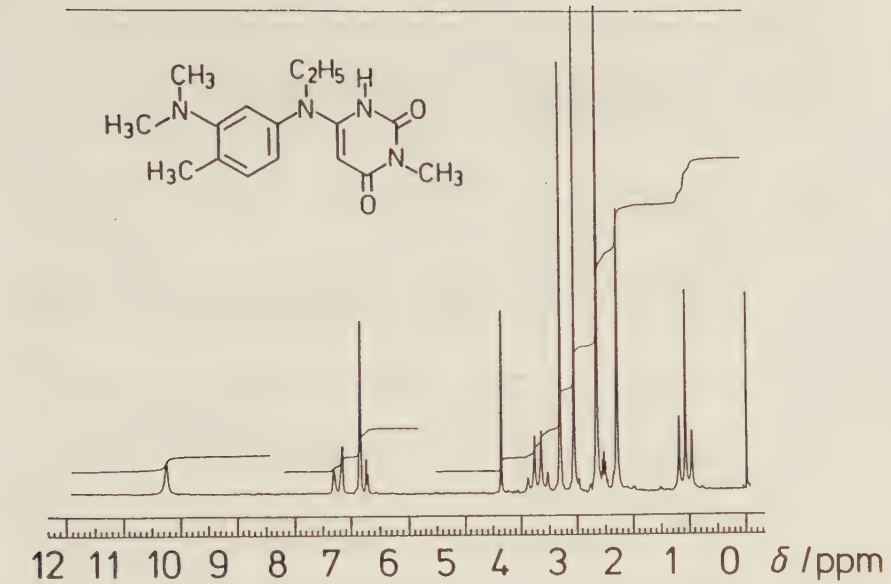


Abb. 5: ^{1}H-NMR-Spektrum von 58c in (D_6)DMSO

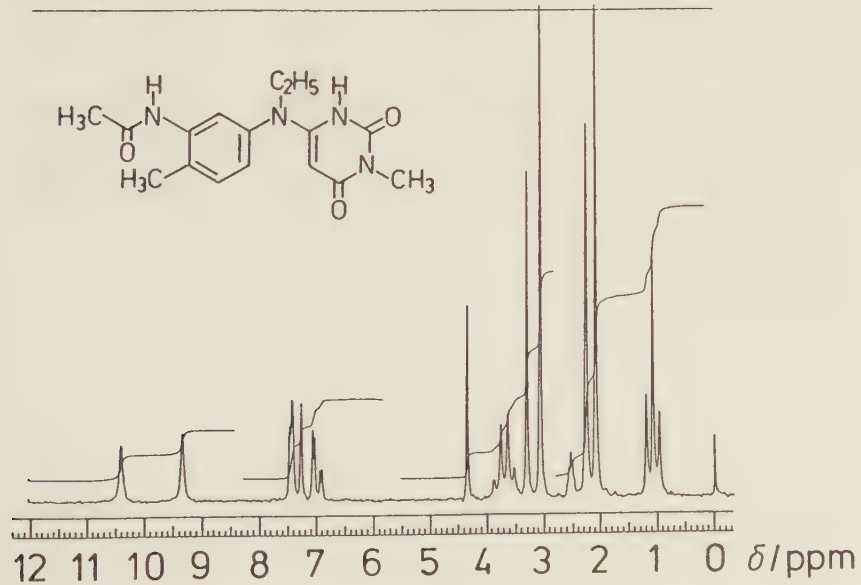


Abb. 6: ^{1}H-NMR-Spektrum von 58e in (D_6)DMSO

Tabelle 3: ^{1}H-NMR-Daten der 8-ständig Donator-substituierten Anilinouracile 58

Verbindung	Substituenten R^7	R^8	R^{10}	^{1}H-NMR-Signale (δ-Werte) der Protonen 1	3	5	2'	4'	5'	6'	R^8	R^{10}
58a	CH_3	CH_3	C_2H_5	10.22	3.04	4.31	7.00	2.24	7.22	6.93	2.24	1.06t 3.67q
" b	H	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	10.31	3.25	5.00	———	6.40-6.81	———		2.99	1.24t 3.63q
" c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	10.25	3.30	4.34	6.81	2.27	7.22	6.76	2.64	1.07t 3.68q
" d	CH_3	NH_2	C_2H_5	10.11	3.03	4.36	6.44	2.05	6.98	6.32	5.00	1.05t 3.62q
" e	CH_3	$NHCOCH_3$	C_2H_5	10.37	3.04	4.33	7.39	2.23	7.29	6.94	9.35	2.06 1.06t 3.67q
" f	CH_3	OH	C_2H_5	10.27	3.05	3.48	6.61	2.14	7.14	6.58	9.55	1.07t 3.66q
" g	CH_3	OCH_3	C_2H_5	10.25	3.04	4.37	6.77	2.17	7.21	6.70	3.78	1.08t 3.71q
" h	CH_3	OCH_3	CH_3	10.30	3.07	4.44	6.80	2.17	7.16	6.75	3.77	3.25
" i	CH_3	NO_2	C_2H_5	10.66	3.06	4.70	7.88	2.52	7.56	7.52	———	1.07t 3.72q

Lösungsmittel: $DMSO_{d6}$

Die IR-Spektren zeigen die für N-Alkylphenylamino-pyrimidindione typischen Carbonylbanden bei 1630 und 1700 cm^{-1}. Wieder sind die Signale - abhängig vom 8-ständigen Substituenten - zu niedrigeren oder höheren Wellenzahlen verschoben.

Tabelle 4: IR-Absorptionen [cm^{-1}] der 8-ständig Donator-substituierten Anilinouracile 58

Verbindung	Substituenten in Position			IR-Absorptionen in Wellenzahlen [cm^{-1}]			
	R^7	R^8	R^{10}	N-H	C^2=O	C^4=O	R^8
58a	CH_3	CH_3	C_2H_5	3423	1632	1696	2970
" b	H	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	3400	1640	1700	2900, 2810
" c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	3410	1630	1700	2970, 2940
" d	CH_3	NH_2	C_2H_5	3411	1617	1696	3411- 3250
" e	CH_3	$NHCOCH_3$	C_2H_5	3408	1624	1697	1600
" f	CH_3	OH	C_2H_5	3400	1625	1690	3220
" g	CH_3	OCH_3	C_2H_5	3412	1636	1697	2833
" h	CH_3	OCH_3	CH_3	3430	1655	1705	2850
" i	CH_3	NO_2	C_2H_5	3453	1635	1700	1527, 1346

2.3. Cyclisierung der Anilinouracile 58 unter Bildung der Thiaflavine

2.3.1. Darstellung 4a-Cl-substituierter Pyrimido-benzothiazin-Derivate (64 bzw. 65)

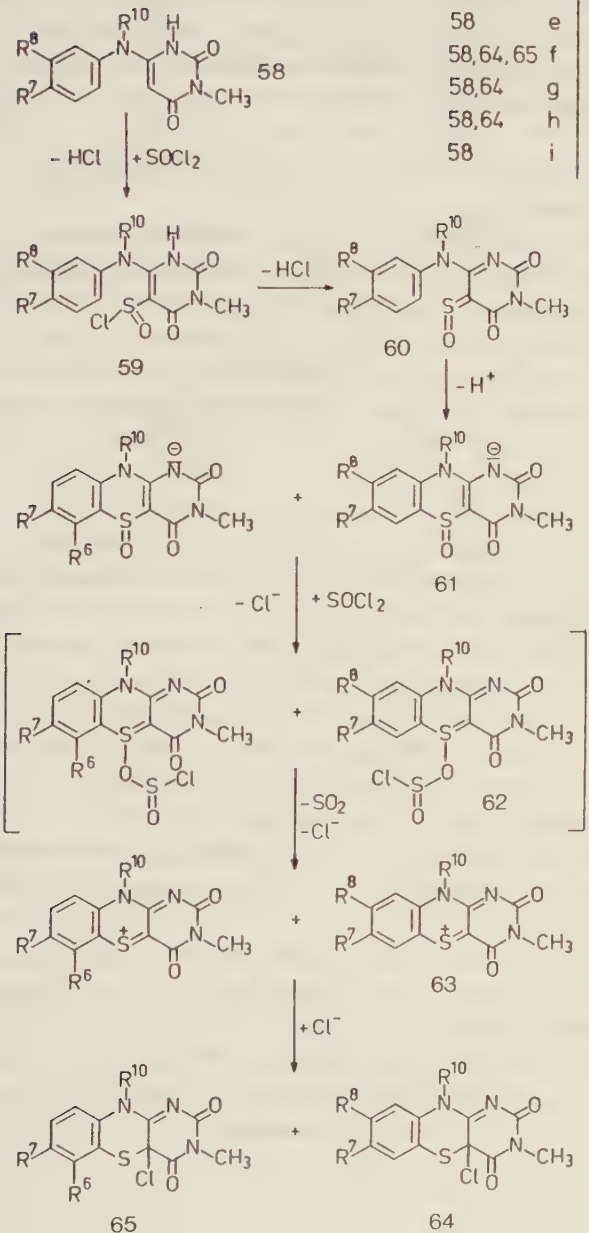
Entsprechend der Synthese nach GOLDMAN [78] erhält man die 4a-Cl-Derivate durch Reaktion der Anilinouracile 58 mit Thionylchlorid unter Argonbegasung und Ausschluß von Luftsauerstoff in inertem, wasserfreien Methylenchlorid. Dabei muß UV-spektroskopisch die Vollständigkeit der Umsetzung kontrolliert werden.

Nach dem von GOLDMAN [87] postulierten Reaktionsmechanismus, erfolgt die Cyclisierung zum 4a-Cl-Pyrimido-benzothiazin über folgende Zwischenprodukte:

Der elektrophile Angriff des Sulfinyl-Kations, das bei der Dissoziation von Thionylchlorid entsteht, führt an der elektronenreichen 5-Position von 58 zur intermediären Bildung des 5-Sulfinylchlorides 59. Durch Dehydrohalogenierung entsteht das Sulfin-Derivat 60, das wiederum zum Sulfoxid-Anion 61 cyclisiert und schließlich über die Zwischenprodukte 62 und 63 mit überschüssigem Thionylchlorid die α-Chlor-substituierten Sulfide 64/65 bildet.

FENNER u. TESSENDORF [79-81] konnten belegen, daß der Gesamtmechanismus des Ringschlußes zum 4a-Cl-Derivat tatsächlich über die Bildung eines Sulfoxids erfolgt. Ferner konnten sie als Nebenreaktion die thermische Cyclisierung der in 5-Position chlorierten Verbindung 51 zum Pyrimido-indol 52 nachweisen (s. S.25).

		R^7	$R^6 = R^8$	R^{10}
58,64	a	CH_3	CH_3	C_2H_5
58	b	H	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
64	b	Cl	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
58,64,65	c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
58,64,65	d	CH_3	NH_2	C_2H_5
58	e	CH_3	$NHCOCH_3$	C_2H_5
58,64,65	f	CH_3	OH	C_2H_5
58,64	g	CH_3	OCH_3	C_2H_5
58,64	h	CH_3	OCH_3	CH_3
58	i	CH_3	NO_2	C_2H_5



Die Anilinouracile 58a, 58c, 58g und 58h werden in entsprechend vorbehandeltem Methylenchlorid gelöst und unter Inertgas nach Zusatz von 10 Volumenteilen Thionylchlorid drei bis vier Stunden schwach siedend erhitzt. Nach vollständigem Abdampfen von überschüssigem Thionylchlorid, erhält man als Rückstand das 4a-Cl-Produkt, das aus Methylenchlorid/n-Hexan 1:1 umkristallisiert werden kann.

Die Umsetzung von 58f und 58d erfolgt unter Variation der Reaktionsbedingungen.
Aufgrund der schlechten Löslichkeit des m-Hydroxy-anilinouracil-Derivates in Methylenchlorid, wird 58f nach Spülen mit Argon in 20 Volumenteilen Thionylchlorid gelöst, die Reaktionslösung nach einstündigem rückfließenden Erhitzen mit Methylenchlorid verdünnt und weitere vier Stunden zum Sieden erhitzt. Dabei wird ständig mit Argon begast. Die Aufarbeitung von 64f erfolgt dann wie oben beschrieben.

Bei der Umsetzung von 58d ist die Reaktivität der in der salzsauren Reaktionslösung protonierten 3'-Amino-Gruppe so herabgesetzt, daß die Cyclisierung nur unvollständig ist. So muß 58d auch direkt in Thionylchlorid gelöst und nach einstündigem Erhitzen mit Methylenchlorid verdünnt werden. Man erhält neben der Ausgangsverbindung und den Zersetzungsprodukten nur 20% 64d in Form des Isomerengemisches.
Dies wird nach Abdampfen von überschüssigem Thionylchlorid sofort mit Hydrazinhydrat zu 66d und 67d reduziert.
Bei der Aufarbeitung muß unter absolutem Ausschluß von Luftsauerstoff gearbeitet werden, da in neutraler und alkalischer Lösung eine hohe Oxidationsempfindlichkeit beobachtet wird.

Die Verbindung 58e konnte nicht mit Thionylchlorid zu 64e umgesetzt werden, da die Acetamido-Gruppe teilweise während der Reaktion hydrolysiert wird.
So entsteht neben den Isomerengemischen der in 8-Stellung mit einer Amino- und einer Acetamido-Gruppe substituierten Thiaflavine eine Reihe von Zersetzungsprodukten, die nicht näher untersucht wurden.

Wird das in 4'-Stellung nicht substituierte Anilinouracil 58b eingesetzt, so erhält man nach Cyclisierung mit Thionylchlorid unter den oben beschriebenen Reaktionsbedingungen das in 7-Position chlorierte 4a-Cl-Pyrimido-benzothiazin 64b.

Zum gleichen Ergebnis kam GOLDMAN [78] bei der Reaktion eines nicht-substituierten Anilinouracils mit Thionylchlorid zum 4a-Cl-Thiaalloxazin. Jedoch erfolgte dort die Chlorierung in 7-Stellung nur in Gegenwart von Pyridin als Protonenfänger.

Der elektronenziehende Effekt der Nitro-Gruppe von 58i verhindert die Cyclisierung. Es wurde lediglich das in 5-Stellung chlorierte Produkt 51i erhalten [79].

Das von FENNER u. TESSENDORF [79-81] beschriebene Indol 52 konnte nicht isoliert werden.

2.3.1.1. 6,7-Isomerenbildung

Abhängig von elektronischen Einflüssen des 8-ständigen Donators und sterischen Effekten, wird das Sulfin-Zwischenprodukt 60 bevorzugt nur in p- oder aber in p- und o-Stellung zum vorhandenen Substituenten elektrophil angegriffen.

So aktivieren die Donator-Substituenten in m-Stellung der Anilinouracile 58a, 58f, 58g und 58h durch Erhöhung der Elektronendichte die o- und p-Position des Benzolkernes für eine elektrophile Substitution. Bedingt durch ihre hohe Reaktivität und eine damit verbundene Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit, sowie durch sterische Effekte, erfolgt jedoch die S_E-Reaktion ausschließlich in p-Position zum Substituenten, so daß im Falle 58a, 58g und 58h nur das gewünschte 7,8-Isomere erhalten wird. Lediglich bei der Cyclisierung zu 64f kann eine mimimale Bildung des 6,7-Isomeren beobachtet werden.

Dagegen liegt die Amino- bzw. Dimethylamino-Gruppe in 58c und 58d unter der Reaktion protoniert vor, so daß es zur einer Erniedrigung der Reaktivität kommt. Dies führt zu einer Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit, wodurch der elektrophile Angriff sowohl in o- als auch in p-Position erfolgt, wobei die Ausbeute an p- die an o-Derivat übertrifft.
Die Isomeren können anhand der Protonenresonanzspektren eindeutig identifiziert werden. Ebenso kann durch ^{1}H-NMR-Spektren der prozentuale Anteil des 6,7-Isomeren erfaßt werden, indem die Integrale der jeweiligen Protonensignale zueinander in Relation gesetzt werden. Demnach entsteht das 6-Amino-Produkt 65d zu 25%, das 6-Dimethylamino-Derivat 65c zu 40% und die 6-Hydroxy-Verbindung 65f lediglich zu 8%.

2.3.1.2. Spektroskopische Identifizierung der 4a-Cl-Derivate

Die ^{1}H-NMR-Spektren der 4a-Cl-Pyrimido-benzothiazin-Derivate 64 sind prinzipiell ähnlich. Die Lage der Signale verändern sich nur unwesentlich und sind der Tabelle 5 zu entnehmen.

Die Abbildungen 7 und 8 geben die Protonen-Resonanzspektren von 64a und 64c wieder.

Dabei fällt auf, daß bei 4.2 ppm und 4.5 ppm die typischen Resonanzen eines ABX_3-Systems zu finden sind, die nur den Protonen der 10-Ethyl-Gruppe zugeordnet werden können. Bedingt durch sterische Effekte sind die Methylenprotonen nicht mehr chemisch äquivalent, sondern verhalten sich wie ein AB-System. So ist jedem Proton der Methylen-Gruppe ein Doppel-Quartett zuzuordnen. Diese Aufspaltung kommt dadurch zustande, daß die beiden Methylenprotonen jeweils als Dublett bei 4.2 und 4.5 ppm in Resonanz treten (J = 14 Hz).

Die beiden Signale des Dubletts spalten erneut in je ein Quartett mit J = 7 Hz auf, was durch die zusätzliche Kopplung mit den benachbarten Methylprotonen erklärt werden kann. Diese wiederum treten bei 1.4 ppm in Form eines Tripletts in Resonanz, ebenfalls mit der Kopplungskonstanten von J = 7 Hz.

Die Protonen der aromatischen Methyl-Gruppe in 7-Stellung bzw. im Falle 64a in 7- und 8-Stellung, sowie die Protonen der Dimethylamino-Gruppe in 8-Position der Verbindung 64c erscheinen als Singuletts bei 2.28, 2.30, 2.36 und 2.37 ppm. Dagegen sind die Protonen der in 3-Stellung am Stickstoff substituierten Methyl-Gruppe aufgrund des induktiven Effektes der benachbarten Carbonyl-Funktionen tieffeldverschoben und treten erst bei 3.5 ppm in Resonanz.

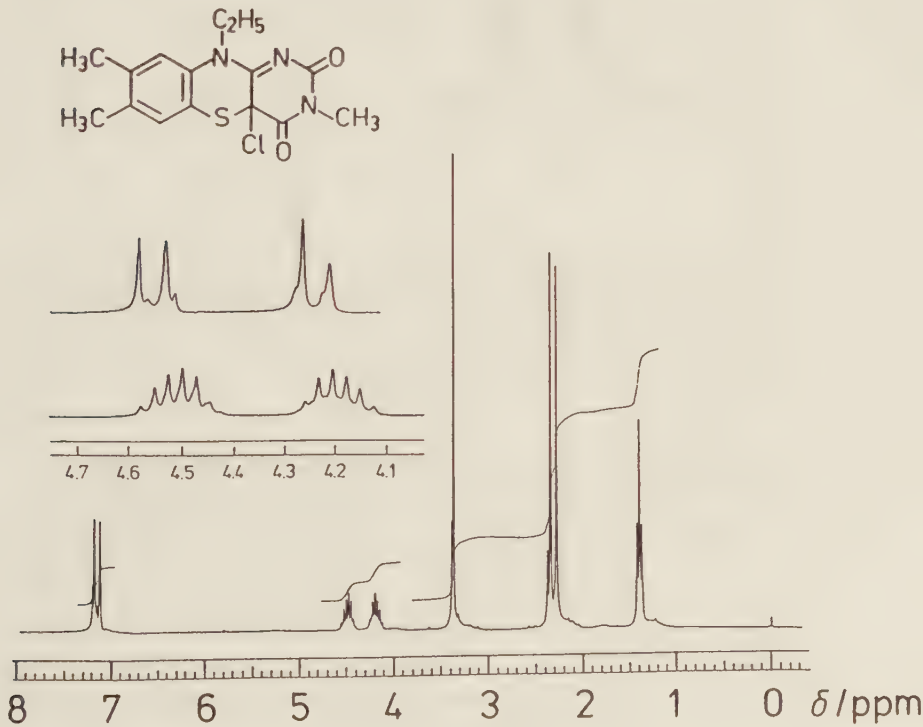
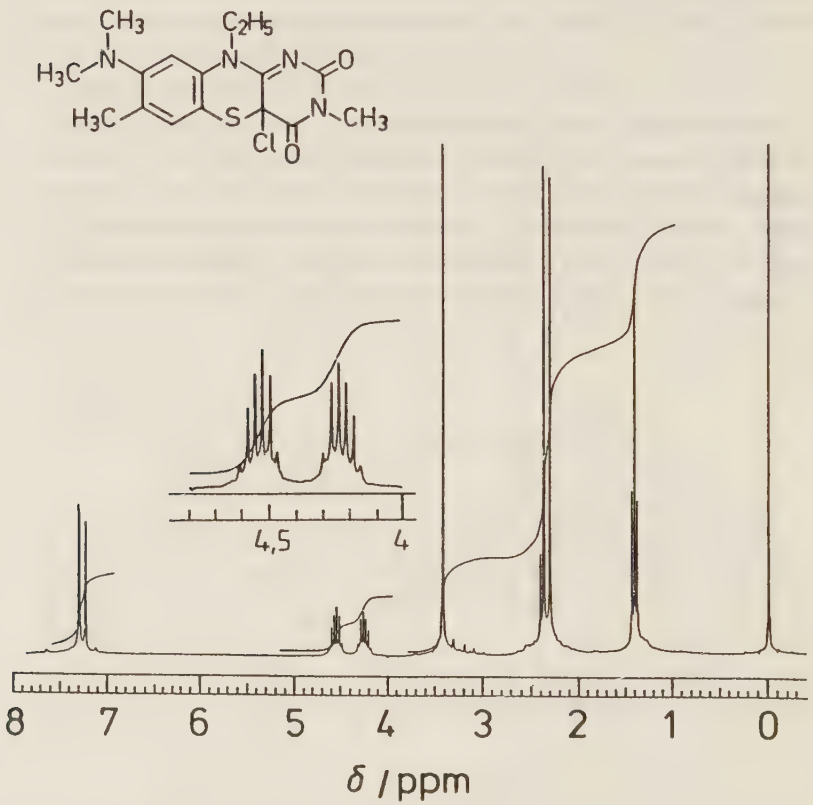


Abb.7: ^{1}H-NMR-Spektrum von 64a in $CDCL_3$

Abb. 8: ^{1}H-NMR-Spektrum von 64c in $CDCl_3$



Das Signal des C-6-Protons ist gegenüber dem Resonanzsignal des C-9-Protons geringfügig paramagnetisch verschoben, so daß im Protonenresonanzspektrum von 64a je ein Singulett bei 7.20 und 7.13 ppm und infolge des Einflusses der Dimethylamino-Gruppe, im Spektrum von 64c die Singuletts bei 7.26 und 7.20 ppm auftreten. Diese Tieffeldverschiebung des C-6-Protons gegenüber dem C-9-Proton wurde bereits bei substituierten Flavinen und dem Lumiflavin durch Deuterierungsversuche und Doppelresonanzexperimente festgestellt [88].

Tabelle 5: ^{1}H-NMR-Daten der 4a-Cl-Thiaflavine 64

Verbindung	Substituenten in Position R^7	R^8	R^{10}	Lösungsmittel	^{1}H-NMR-Signale (δ-Werte) der Protonen 3	6	7	8	9	10
64a	CH_3	CH_3	C_2H_5	$CDCl_3$	3.38	7.20	2.28	2.36	7.13	1.42t 4.22dq 4.51dq
" b	Cl	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	$DMSO_{d6}$	3.06	7.10	----	2.76	6.74	1.18t 4.16- 4.75dq/dq
" c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	$CDCl_3$	3.42	7.26	2.30	2.37	7.20	1.41t 4.24dq 4.55dq
" f	CH_3	OH	C_2H_5	$DMSO_{d6}$	3.17	7.61	2.11	9.53	7.08	1.27t 3.99m
" g	CH_3	OCH_3	C_2H_5	$CDCl_3$	3.42	7.24	2.24	3.92	6.84	1.42t 4.30dq 4.53dq

In den IR-Spektren tritt bei 1715-1718 cm^{-1} eine schwache Absorptionsbande auf, die charakteristisch für die 4-Carbonyl-Gruppe von 4a-substituierten Thiaflavinen ist, weil die Substitution am 4a-Kohlenstoff-Atom die C^4=O-Gruppe vom Chromophor abtrennt. Damit wird eine hypsochrome Verschiebung und eine gleichzeitige Abnahme der relativen Intensität, bezogen auf die scharfe Bande der C-2-Carbonylschwingung bei 1657 - 1670 cm^{-1}, bewirkt [89] (Tab. 6).
Ähnliche IR-Daten liegen auch von 4a-substituierten Flavinen vor [90/91].

Tabelle 6: IR-Absorptionen [cm^{-1}] der 4a-Cl-Thiaflavine 64

Verbindung	Substituenten in Position			IR-Absorptionen in Wellenzahlen [cm^{-1}]		
	R^7	R^8	R^{10}	C^2=O	C^4=O	R^8
64a	CH_3	CH_3	C_2H_5	1670s	1715w	2970
" b	Cl	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	1676s	1717w	2970
" c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	1670s	1718w	2662
" f	CH_3	OH	C_2H_5	1657s	1717w	3424
" g	CH_3	OCH_3	C_2H_5	1667s	1718w	2850

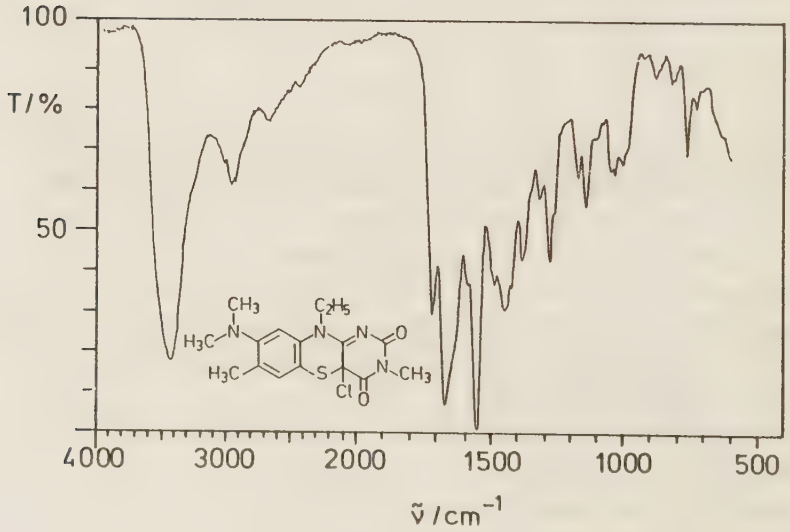


Abb. 9: IR-Spektrum 64c in KBr

Massenspektren

Der Hauptfragmentierungsweg der 4a-Cl-Thiaflavine 64 wird am Beispiel des Massenspektrums der Verbindung 64g deutlich (Abb. 10).

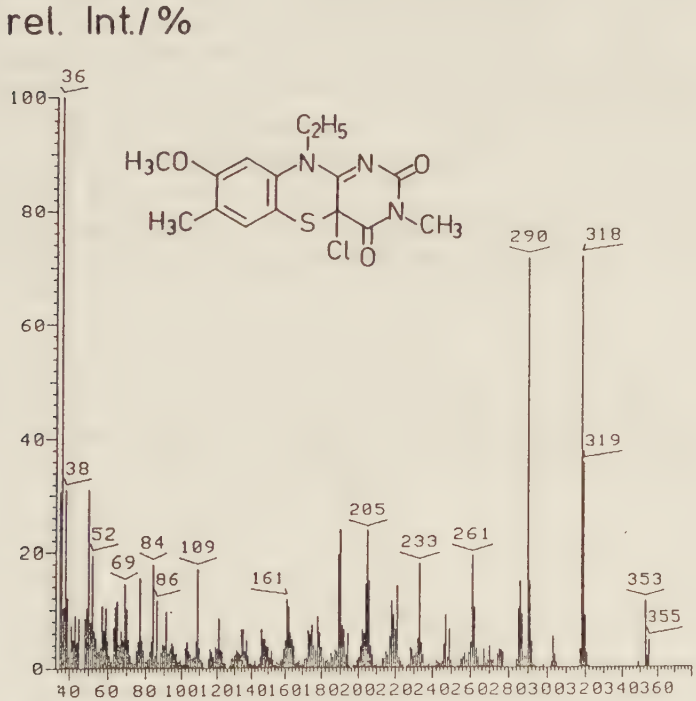
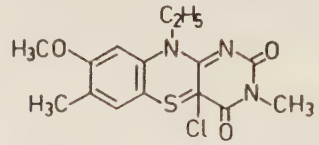


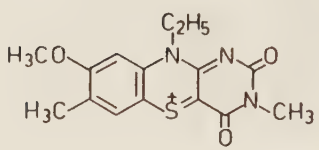
Abb. 10: Massenspektrum von 64g

Neben dem Molpeak bei m/z 353 tritt der ^{35}Cl-Isotopenpeak bei 355 auf. Die Fragmentierung verläuft über die Elimination der Chloratome in 4a-Position. Das entstandene Fragmention spaltet bevorzugt die Ethyl-Gruppe in 10-Position ab. Anschließend erfolgt der Abbau des Pyrimidinteiles durch Abspaltung von Methylisocyanat und Kohlenmonoxid (s. Fragmentierungsschema).

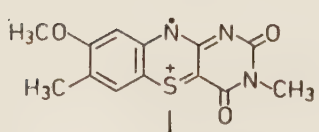
Fragmentierungsschema für 64g



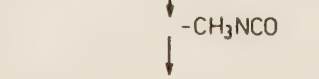
m/z 353

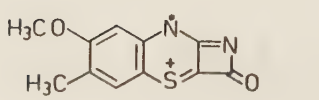


m/z 318

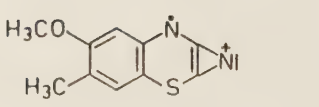


m/z 290

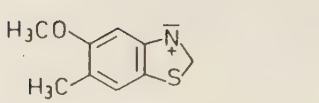




m/z 233



m/z 205



m/z 178

UV/VIS-Spektren

Bei den UV-spektroskopischen Untersuchungen der 7,8-substituierten 4a-Cl-Pyrimido-benzothiazine (in Methylenchlorid als Lösungsmittel), findet man für die 4a-Cl-Lumiflavin-analoge Verbindung 64a das für 4a-substituierte Thiaflavine typische langwellige Maximum bei 354 nm.
Das Elektronenspektrum der Verbindung 64g weist aufgrund der Erweiterung des Chromophors durch die einsamen Elektronenpaare der Methoxy-Gruppe eine bathochrome Verschiebung um etwa 8 nm auf. Der Chromophor der Verbindung 64f ist mit dem von 64a zu vergleichen.
64b, 64c und 64d liegt in protoniertem Zustand vor, daraus resultiert eine hypsochrome Verschiebung um ca. 42 nm (Tab. 7).

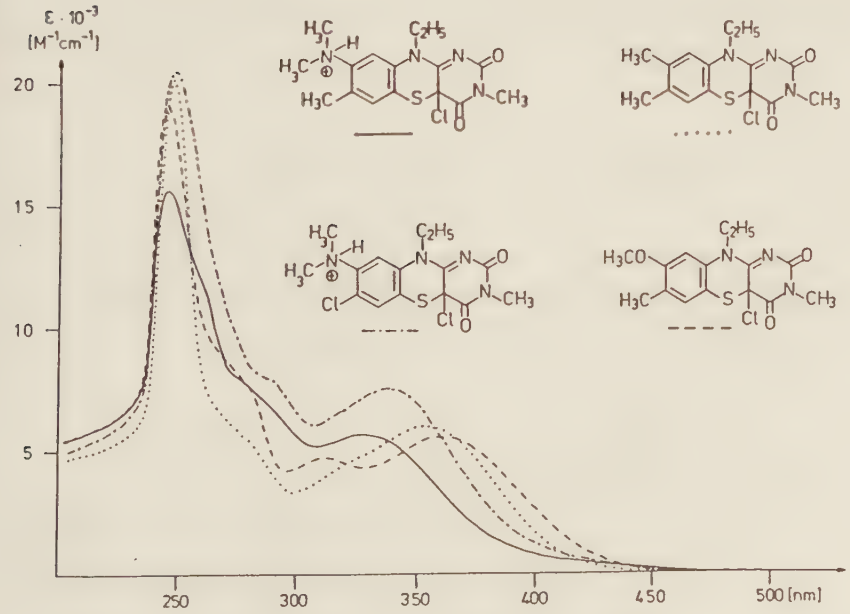
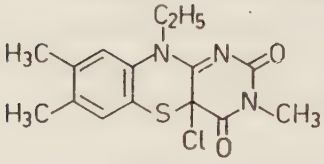
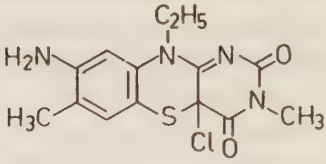


Abb. 11: UV/VIS-Spektrum von 64a, 64b, 64c und 64g

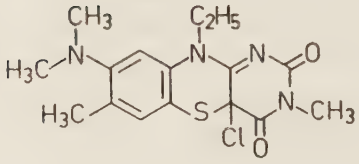
Tabelle 7: UV/VIS-Spektren der 4a-Cl-Thiaflavine 64



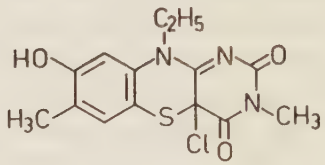
64a



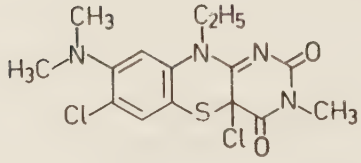
64d



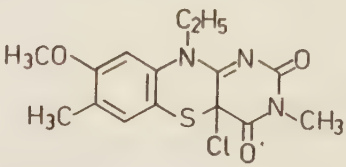
64c



64f



64b



64g

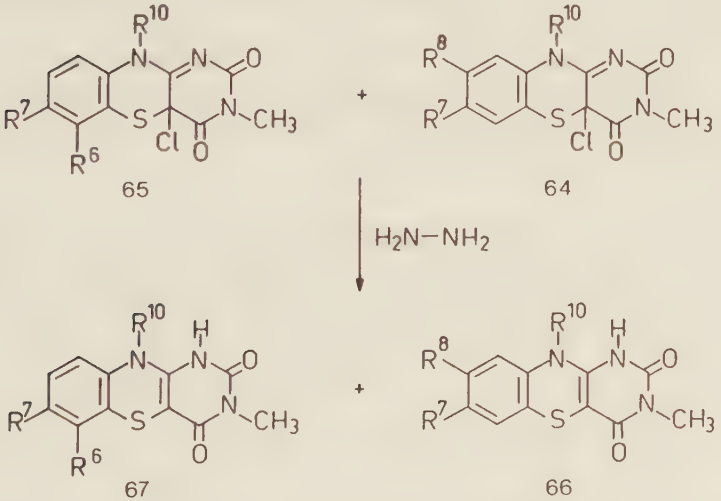
Verbindung	Substituenten			Elektronenspektren * λ_{max} in nm ($\varepsilon \cdot M^{-3} \cdot cm^{-1}$)
	R^7	R^8	R^{10}	
64a	CH_3	CH_3	C_2H_5	354 (6.0), 280s(5.4), 250(21.0),
" b	Cl	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	339 (4.0), 289(16.5),
" c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	329 (5.8), 282s(7.5), 245(15.6),
" d	CH_3	NH_2	C_2H_5	312(qual.),234(qual.),
" f	CH_3	OH	C_2H_5	350 (5.2), 318s(4.4), 280s(5.8), 244(19.7),
" g	CH_3	OCH_3	C_2H_5	361 (5.6), 311s(4.8), 279s(7.8), 245(19.2).

---

* s = Schulter
Lösungsmittel: Methylenchlorid

2.3.2. Reduktion von 64 zu 2,4-Dioxo-pyrimido-benzothiazinen

Durch Reaktion der 4a-Cl-Thiaflavine mit Hydrazinhydrat erhält man die Thiaisoalloxazine 66 bzw. deren Isomere 67. Eine kovalente Fixierung des Hydrazins in 4a-Position im Zuge einer S_N-Reaktion an 64 ist nicht belegt; während FENNER u.TESSENDORF [79-81] für eine Reihe von Nucleophilen solche Addukte isolieren bzw. spektral nachweisen konnten, gelang eine Identifizierung dieser Zwischenstufe im Falle der Umsetzung mit Hydrazin nicht.



		R^7	$R^6 = R^8$	R^{10}
64,66	a	CH_3	CH_3	C_2H_5
64,66	b	Cl	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
64-67	c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
64-67	d	CH_3	NH_2	C_2H_5
64-67	f	CH_3	OH	C_2H_5
64,66	g	CH_3	OCH_3	C_2H_5
64,66	h	CH_3	OCH_3	CH_3

Die 4a-Cl-Derivate werden in wasserfreiem Methylenchlorid unter Ausschluß von Luftsauerstoff gelöst und tropfenweise mit Hydrazinhydrat versetzt. Dabei tritt eine rasche Farbänderung von grün über blau nach gelb auf. Nachdem man zwei Stunden zum Sieden erhitzt hat, wird der gebildete gelbe Niederschlag gesammelt und durch Umkristallisieren gereinigt.

2.3.2.1. Trennung des Isomerengemisches 66/67

Die durch Reduktion des schon bei der Cyclisierung entstandenen Isomerengemisches 64/65 gebildeten 6,7- und 7,8-substituierten 2,4-Dioxo-pyrimido-benzothiazine 66 und 67 werden im Falle der 8-Dimethylamino-Verbindung 66/67c säulenchromatographisch getrennt.

Das gewünschte 7,8-isomere Phenol (66f) erhält man durch rückfließendes Erhitzen in Ethanol, wobei es als unlöslicher Rückstand anfällt.

Die Isolierung des Isomerengemisches des 8-Amino-Thiaflavins wurde bereits unter 2.3.1. diskutiert. Durch die hohe Oxidationsempfindlichkeit der Verbindung 66/67d war die Trennung der Isomeren nicht möglich.

2.3.2.2. Spektrale Daten von 66 bzw. 67

Die ^{1}H-NMR-Spektren von 66 sind charakterisiert durch die als Singuletts erscheinenden Resonanzsignale der N-3(CH_3)-Protonen bei 3.12 ppm, sowie durch die Protonensignale der 7-ständigen aromatischen Methyl-Gruppe bei etwa 2.1 ppm.

Ferner kann man für die bei 6.8 und 6.6 ppm auftretenden Singuletts eine klare Zuordnung treffen. Auch hier kommt es zu einer geringfügigen paramagnetischen Verschiebung des C-6-Protons gegenüber dem bei 6.6 ppm in Resonanz tretenden C-9-Proton.

Auch sind das Auftreten der Methylprotonen-Signale in Form eines Tripletts bei etwa 1.2 ppm, sowie die der Methylen-Gruppe in Form eines Quartetts bei etwa 4.0 ppm typisch für die in 10-Stellung vorhandene Ethyl-Gruppe.

Bei etwa 11.2 ppm erscheint das breite Signal des N-1-Protons, das als acides Proton mit D_2O austauschbar ist.

Die ^{1}H-NMR-Spektren der 6,7-Isomeren 67d und 67c zeigen im Aromatenbereich die typische AB-Aufspaltung der Resonanzsignale bei 6.32 bzw. 6.64 und 6.83 bzw. 6.85 ppm für die beiden benachbarten Protonen am C-9- und C-8-Atom.
Die beiden resultierenden Dubletts haben die für eine o-Kopplung charakteristische Konstante von J = 8 Hz.

Die ^{1}H-NMR-Daten für die jeweiligen 8-ständigen Substituenten sind u.a. in Tab.8 wiedergegeben.

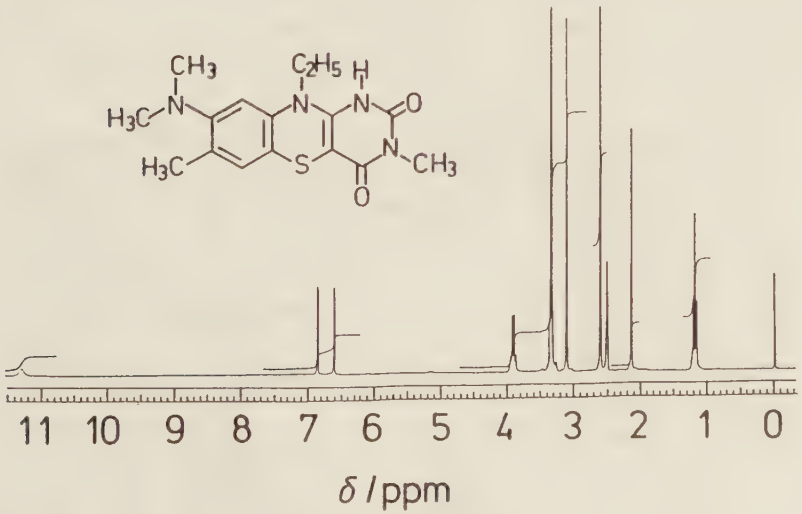
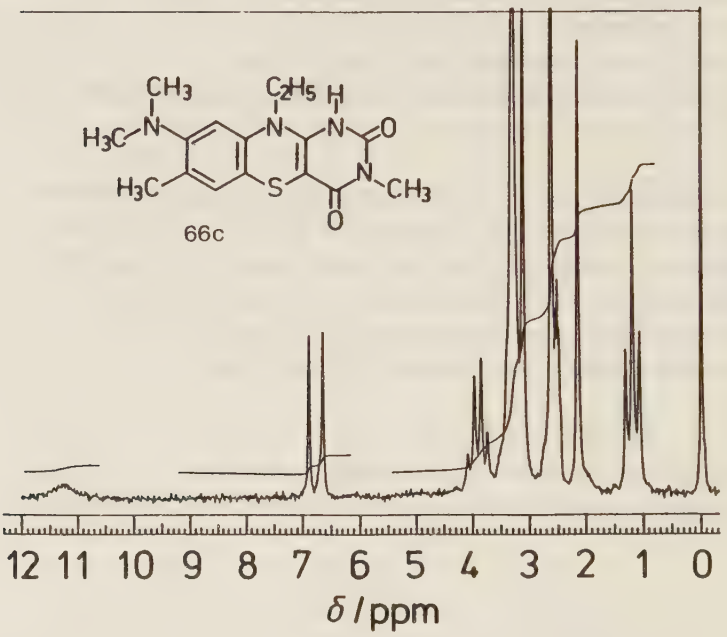


Abb. 12: 250-MHz-^{1}H-NMR-Spektrum von 66c in (D_6)DMSO

Abb. 13 u. 14: Protonenresonanzspektren von 66c und 67c in (D_6)DMSO



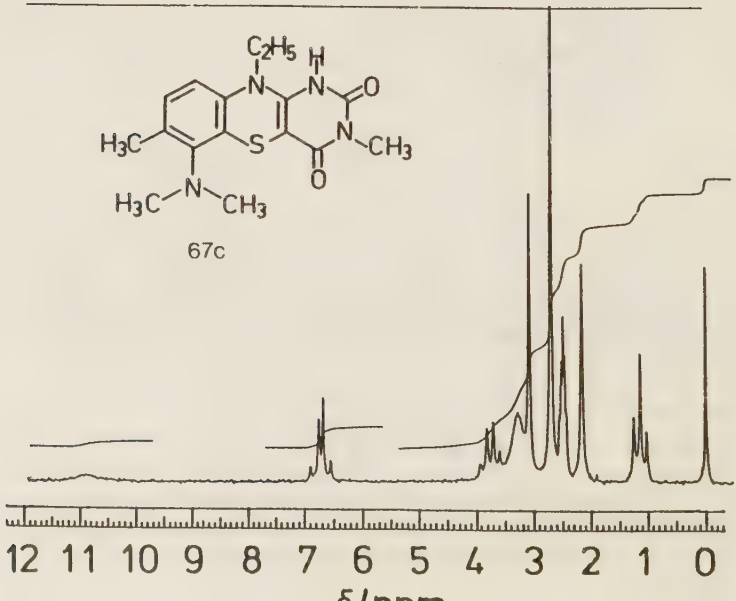


Tabelle 8: ^{1}H-NMR-Daten der Thiaflavine 66 und 67

Verbindung	Substituenten R^7	R^8	R^{10}	Lösungsmittel	^{1}H-NMR-Signale (δ-Werte) der Protonen 1	3	6	7	8	9	10
66a	CH_3	CH_3	C_2H_5	$DMSO_{d6}$	11.36	3.10	6.85	2.11	2.15	6.85	1.17t 3.88q
" b	Cl	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	$DMSO_{d6}$	11.47	3.12	7.13	——	2.72	6.68	1.21t 3.93q
" c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	$DMSO_{d6}$	11.15	3.10	6.84	2.14	2.60	6.60	1.19t 3.90q
" d	CH_3	NH_2	C_2H_5	DMF_{d7}	11.18	3.18	6.68	2.06	6.00	6.55	1.28t 3.99q
" f	CH_3	OH	C_2H_5	$DMSO_{d6}$	11.19	3.14	6.81	2.04	9.38	6.51	1.23t 3.83q
" g	CH_3	OCH_3	C_2H_5	DMF_{d7}	11.20	2.69	6.91	2.21	3.20	6.77	1.33t 4.12q
" h	CH_3	OCH_3	CH_3	$DMSO_{d6}$	11.18	3.12	6.84	2.04	3.81	6.53	3.33

Verbindung	Substituenten R^7	R^6	R^{10}	Lösungsmittel	^{1}H-NMR-Signale (δ-Werte) der Protonen 1	3	6	7	8	9	10
67c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	$DMSO_{d6}$	11.10	3.10	2.72	2.17	6.85d	6.69d	1.13t 3.77q
" d	CH_3	NH_2	C_2H_5	DMF_{d7}	11.20	3.23	6.02	2.12	6.83d	6.32d	1.21t 4.03q
" f	CH_3	OH	C_2H_5	$DMSO_{d6}$	11.23	3.19	9.43	2.10	6.93d	6.62d	1.09t 3.47q

In den IR-Spektren sind die bei höherer Wellenzahl auftretenden Absorptionen der ^{4}C=O-Gruppe als scharfe Banden bei etwa 1690 cm^{-1} zu erkennen. Die Intensität entspricht den 2-Carbonylschwingungen bei etwa 1620 cm^{-1} (Tab. 9).

Tab.9: IR-Absorptionen [cm^{-1}] der Thiaflavine 66

Verbindung	Substituenten			IR-Absorptionen in Wellenzahlen [cm^{-1}]		
	R^7	R^8	R^{10}	C^2=O	C^4=O	R^8
66a	CH_3	CH_3	C_2H_5	1625s	1685s	2980
" b	Cl	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	1619s	1690s	2872
" c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	1630s	1690s	2820
" d	CH_3	NH_2	C_2H_5	1615s	1690s	3350, 3310, 1605
" f	CH_3	OH	C_2H_5	1650s	1720s	3370, 1360
" g	CH_3	OCH_3	C_2H_5	1622s	1696s	2964
" h	CH_3	OCH_3	CH_3	1624	1684-	2954

Aus einem Vergleich der IR-Spektren von 64 mit denen von 66 geht hervor, daß die Chlor-Substitution in 4a-Stellung eine Verschiebung der C=O-Banden zu höheren Wellenzahlen bewirkt (Abb. 15/16).

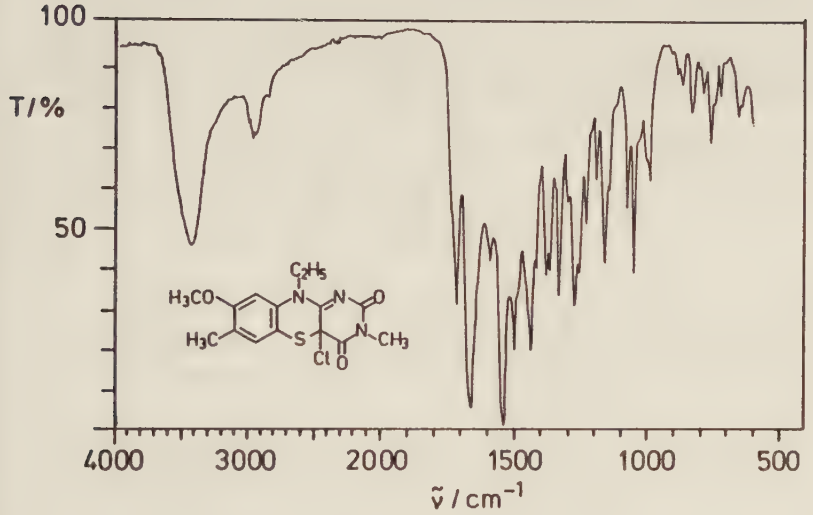


Abb. 15: IR-Spektrum von 64g in KBr

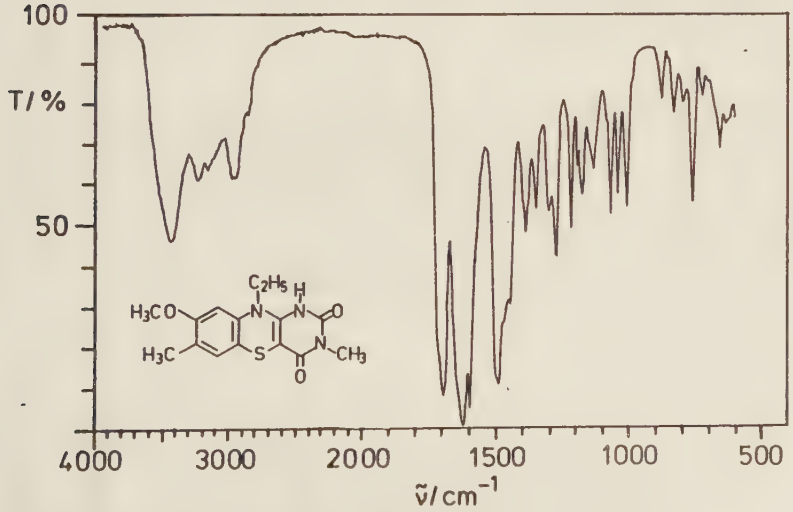
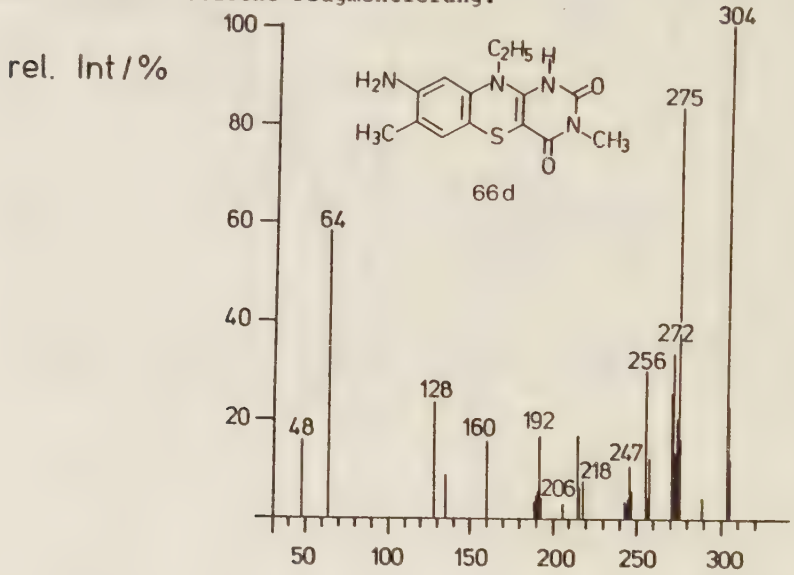


Abb. 16: IR-Spektrum von 66g in KBr

Die Massenspektren von 66f und 66d (Abb. 17), sowie das hochaufgelöste Massenspektrum von 66d und der hier gezeigte unimolekulare Zerfall im ersten feldfreien Bereich (DADI) zeigen eine charakteristische Fragmentierung.



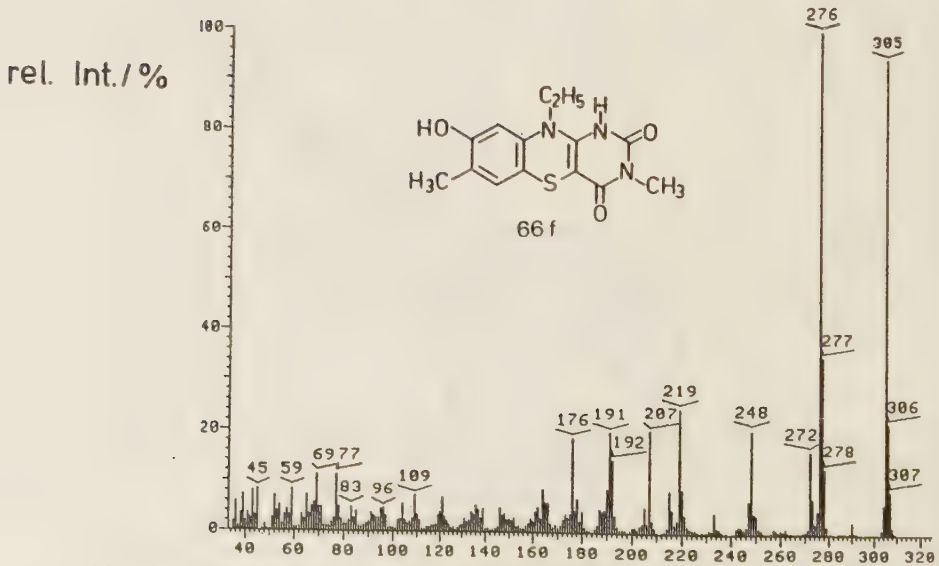


Abb. 17: Massenspektrum von 66f und 66d

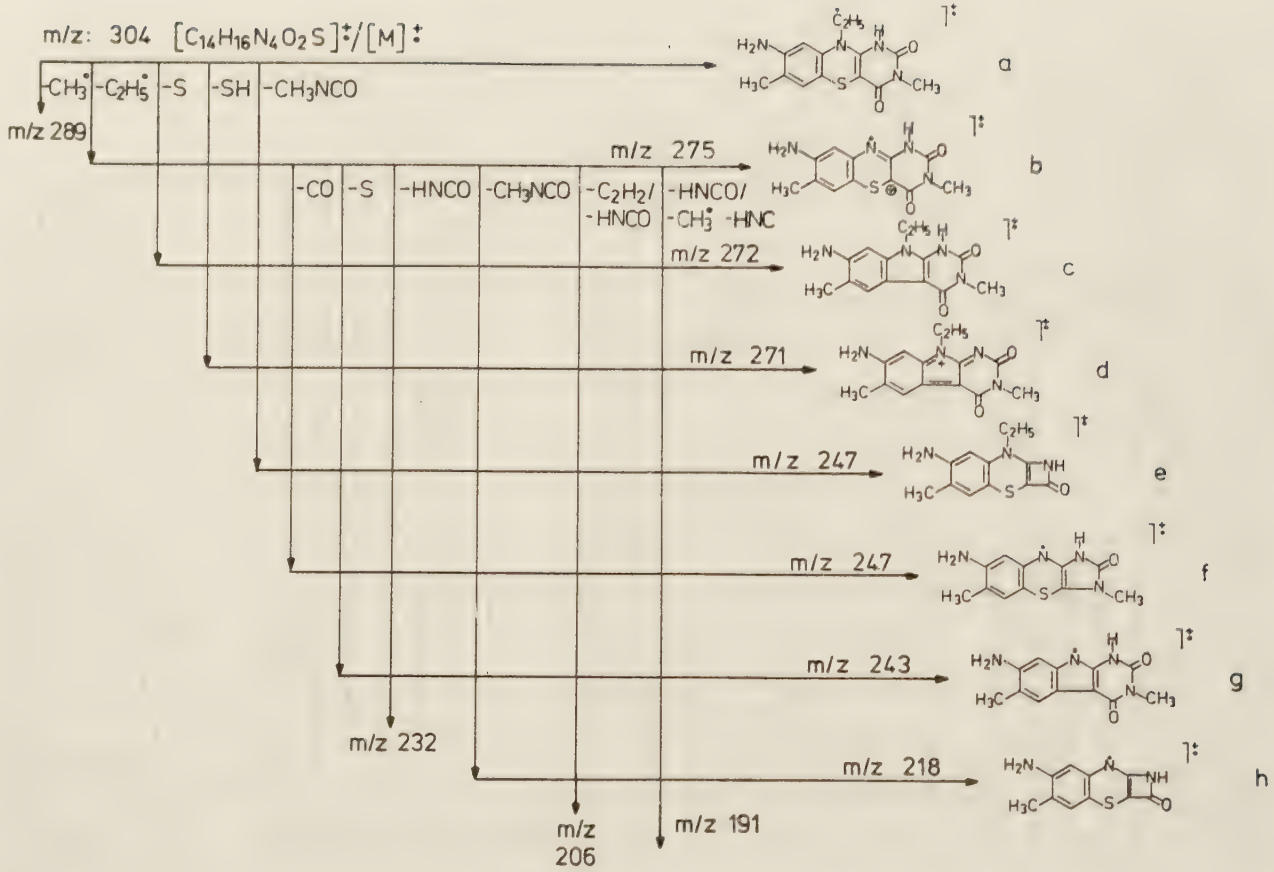
Das Molekülion des 8-Amino-3,7,10-trimethyl-5-thiaisoalloxazins zeigt drei Hauptfragmentierungen:

So wird zum einen die Ethyl-Gruppe in Position 10 bevorzugt eliminiert und anschließend aus dem gebildeten Fragmention b CO oder CH_3NCO abgespalten. Dabei verbleibt das Schwefel-Atom im Molekülgerüst.
Durch Eliminierung von CH_3NCO gelangt man zum Fragmention h, das als Vierring stabilisiert werden kann.

Die zweite Möglichkeit besteht in der Abspaltung von S/SH$^{\bullet}$ aus dem Molekülion a unter Beibehaltung der Ethyl-Gruppe, bzw. aus dem Fragmention b nach Eliminierung der Ethyl-Gruppe.

Die dritte Möglichkeit besteht im Abbau des Pyrimidinteiles. So entsteht durch Decarbonylierung aus dem Molekülion b das Fragmention f mit der Masse 247. Anhand des Abbaus von markierten Thia- bzw. Isoalloxazinen [92] wird davon ausgegangen, daß eine bevorzugte Abspaltung der Carbonyl-Gruppe in Position 4 erfolgt. Schließlich wird durch Abspaltung von CH_3NCO aus dem Molekülion a das Fragmention e erhalten, das ebenfalls wie das Fragmention h als Vierring stabilisiert wird.

Die UV/VIS-Spektren der Thiaflavine zeigen eine charakteristische Abhängigkeit der Chromophore in Relation zur Acidobasizität des Systems. Die durch 8-Substitution in 66c-h bewirkte Veränderung des Chromophors wird beim Vergleich der Redox-Systeme 7,8-Dimethyl-substituierter Thiaflavine mit denen der Donator-substituierten deutlich (s. 3.1.1.).



Fragmentierungsschema von 66d: Zerfälle im ersten feldfreien Bereich $[M^{+\cdot}]$

3. Das Redox-System der 2,4-Dioxo-pyrimido-benzothiazine

Von den möglichen Oxidationsstufen des 5-Thiaflavin-Systems kann man lediglich $sFl_{red}H$ und sFl$^{\cdot}$ für den Vergleich mit den drei reversiblen Redoxschritten des natürlichen Flavin-Systems (Fl_{ox}, Fl$^{\cdot}$H und H_2Fl_{red}) heranziehen.
Das durch den Einbau des Schwefel-Atoms stabile Dihydro-Thiaflavin stellt die mit dem Flavin vergleichbare hydrochinoide Stufe dar.
Die 5-Thiaflavin-Radikale sind ebenfalls äußerst stabil und werden als Analoge der 5-H-Fl$^{\cdot}$-Radikale angesehen.
Dagegen entspricht der chinoiden Stufe des Flavin-Systems lediglich formal das Thiazonium-Kation, dessen Bildung durch Hydrid-Abgabe irreversibel ist, weil eine Stabilisierung nur durch OH-Addition erfolgen kann, wobei als Endprodukt das stabile Sulfoxid entsteht [53/13].

Wie beim Flavin können auch für das Thiaflavin UV/VIS-spektroskopisch für die reduzierte und halbreduzierte Stufe verschiedene monomolekulare Spezies (Anion, Kation und Neutralverbindung) identifiziert werden [53/81/89] (s. S.68).

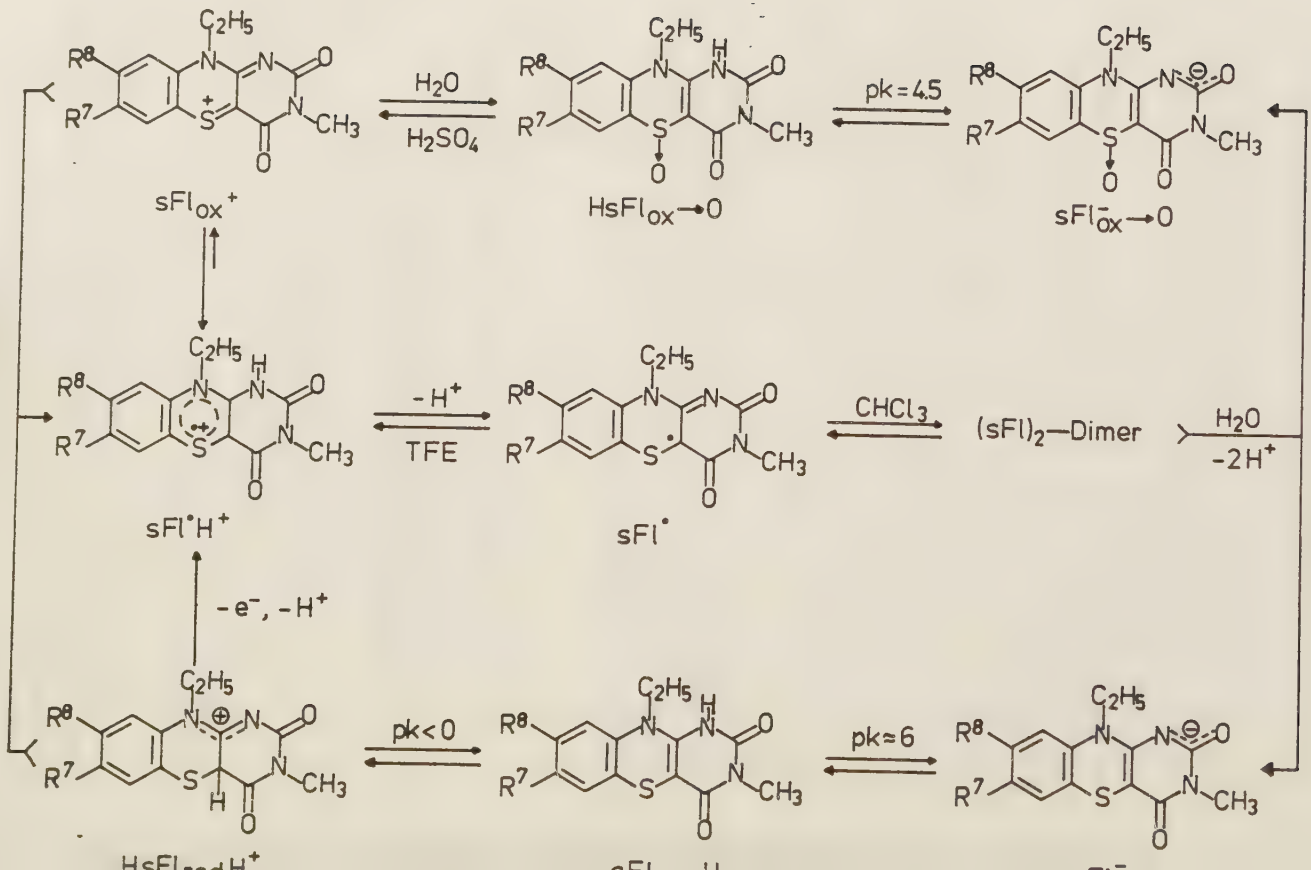
3.1. $sFl_{red}H$ - Die reduzierte Stufe des 5-Thiaflavins

3.1.1. UV-spektroskopische Untersuchungen der modifizierten Dihydro-5-Thiaflavine

Das reduzierte 8-ständig Donator-substituierte Thiaflavin kann in Form seines Neutralkörpers, Anions oder Kations vorliegen, wobei, abhängig vom Donator, ein zusätzliches saures (R^8 = Hydroxy) oder basisches Zentrum (R^8 = Amino- oder Dimethylamino) zu berücksichtigen ist.

Alle Spezies sind UV/VIS-spektroskopisch zu erfassen. Dabei wird die Analogie mit der neutralen Form und dem Anion des Dihydroflavins deutlich (Tabelle 10).

DAS THIAFLAVIN–REDOXSYSTEM



Charakteristisch für das Dihydroflavin ist eine langwellige Endabsorption bei λ = 350 - 400 nm. Es wird angenommen, daß das Flavinhydrochinon im Grundzustand in der 5/10-Achse gewinkelt ist, während es im ersten elektronischen Anregungszustand planar vorliegt, woraus die Absorption bei λ = 400 nm resultiert [93]. Dies ist auch damit zu erklären, daß im gewinkelten System die Resonanzfähigkeit der Heteroatome in 5- und 10-Position, aufgrund ihres ausgeprägteren sp^3-Charakters, zurückgedrängt wird, so daß es zu einer Abnahme der langwelligen Absorption kommt.
Somit reflektiert die langwellige Absorption in den Elektronen-Spektren die tricyclische Resonanz und damit den Planaritätsgrad des Systems.

Dagegen ist die langwellige Endabsorption des Thiaflavins sehr schwach ausgeprägt, was auf eine verstärkte Non-Koplanarität des freien Moleküls hinweist. Das Anion ist - bedingt durch den π-Elektronenüberschuß - noch stärker gewinkelt. Auch ist die erhöhte Non-Koplanarität ein Grund für die verminderte Oxidationsempfindlichkeit des Lumiflavin-analogen Thiaflavins.

Die in stark saurem Milieu (HCL konz., TFE) erfolgende Protonierung in C-4a-Position ist charakteristisch für die 5-Thiaflavine.

Im Vergleich zum Lumiflavin-analogen Thiaflavin 66a weisen die Elektronenspektren des Anions und des Neutralkörpers der 8-substituierten Donator-Thiaflavine 66b-g keine wesentlichen Unterschiede auf (Tab.10, Abb. 18).

Dagegen ist im sauren Milieu die Nucleophilie des 4a-C-Reaktionszentrums nach N-Protonierung der 8-ständigen Dimethylamino bzw. Amino-Gruppe so stark herabgesetzt, daß keine Reaktion zu einer H_2sFl^+red-analogen Struktur möglich ist.

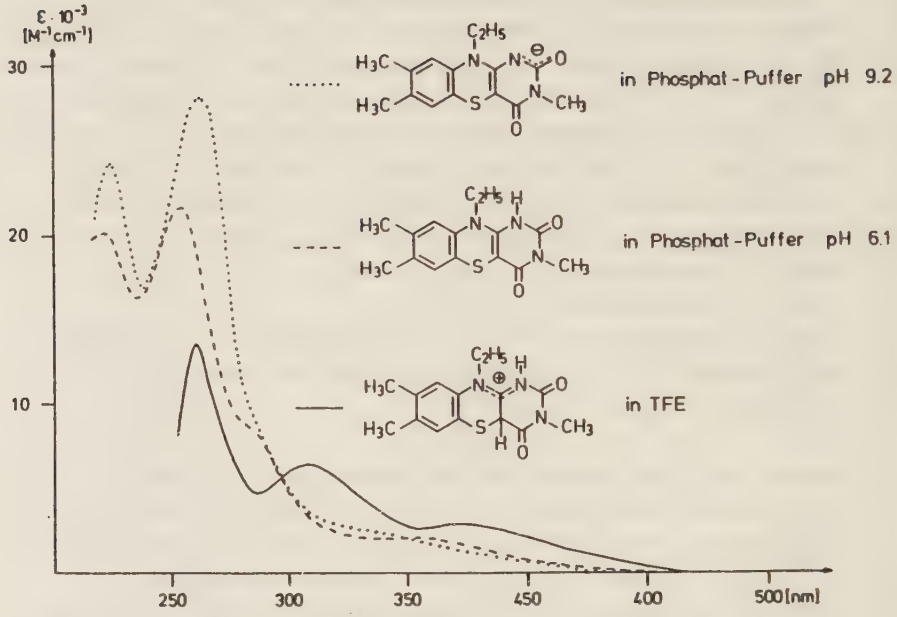


Abb. 18: UV/VIS-Spektrum von 66a

Bei den 8-Hydroxy- und 8-Methoxy-Thiaflavin-Derivaten 66f-h weisen die langwelligen Absorptionsbanden bei 370 bzw. 383 nm auf eine C-4a-Protonierung hin.

In Tab.10 sind die Absorptionsmaxima der verschiedenen Spezies aufgeführt mit den - wenn die Bestimmung möglich war - jeweiligen pK-Werten.

Die pK-Wert-Bestimmung erfolgt elektronenspektroskopisch [94] anhand des Verhältnisses Neutral-Molekül/protonierte bzw. deprotonierte Form.
Dabei wird die Wellenlänge gewählt, die die größte Differenz der beiden Absorptionsmaxima aufweist. In Pufferlösungen mit pH-Sprüngen von 0.2 Einheiten werden Elektronenspektren aufgenommen und der pH-Wert ermittelt, dessen Absorptionsbanden die Absorptions-Differenz der beiden Spezies halbiert.

Abb. 19: UV/VIS-spektroskopische pK-Wertbestimmung von 66c

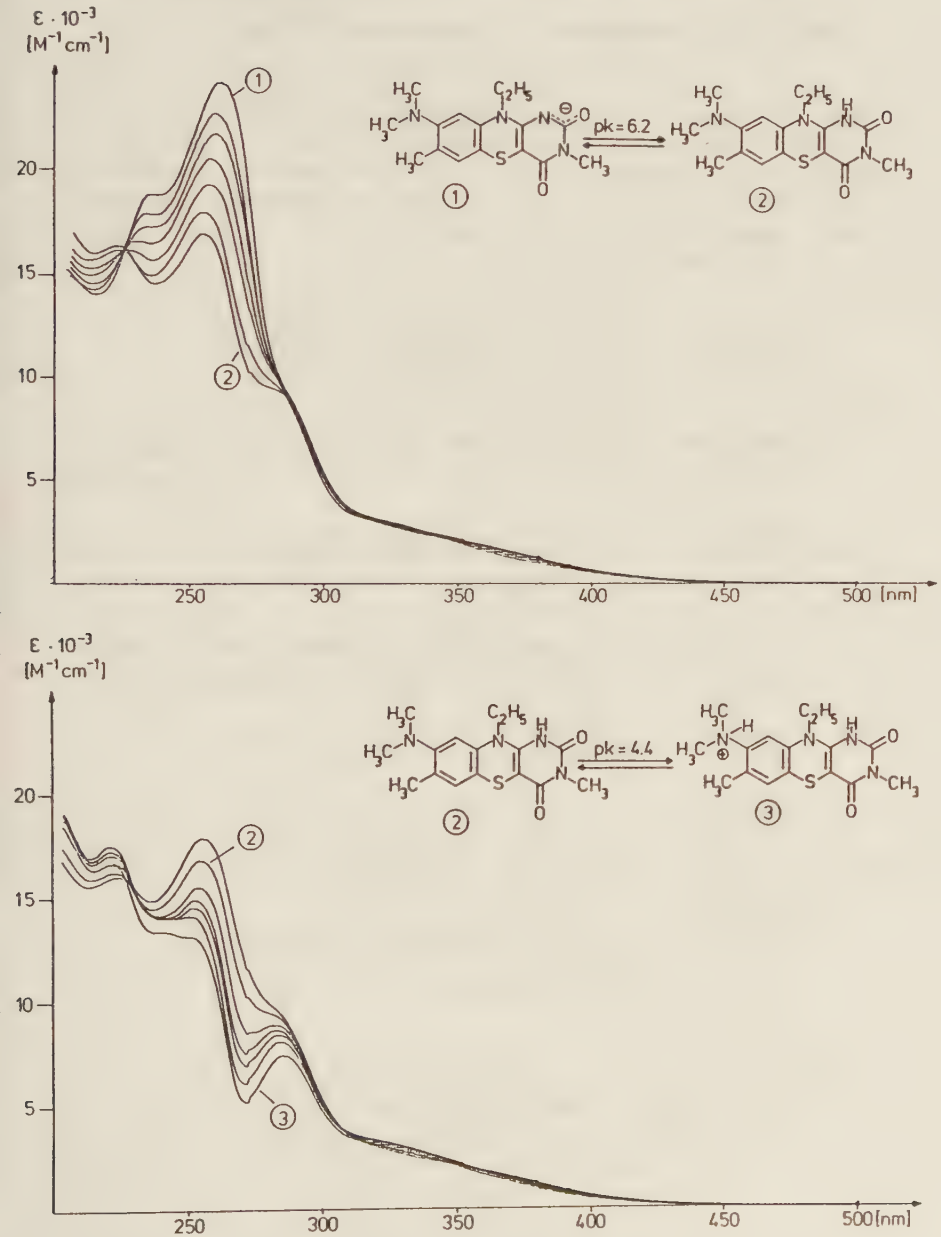


Tabelle 10: UV/VIS-Spektren der Dihydro-Thiaflavine 66

Verbindung	Lösungsmittel	Elektronenspektren λ_{max} in nm ($\varepsilon \cdot M\ 10^{-3}\ cm^{-1}$)	Ladung	pK
66a	Puffer pH 6.1*	254 (21.4), 285 (8.5).	O	——
	25%ige NaOH	262 (28,0),	-	6.3
	TFE	308 (6.3), 375 (2.7).	+	O
" b	Methanol	244 (24.1), 285 (17.6), 333s (3.5).	O	——
	1 N NaOH	263 (33.6), 287s(31.2), 333s (3.5).	-	——
	6 N HCl	241 (20.2), 256 (22.5), 287 (31.2), 333 (31.2).	+	——
" c	Puffer pH 5.0*	255 (16.7), 285 (9.1).	O	——
	1 N NaOH	235 (18.6), 262 (24.0).	-	6.2
	35%ige H_3PO_4	285 (7.4), 272 (5.2).	+	4.4
" d	Methanol	212 (12.9), 245 (10.9), 284s (6.2).	O	——
	1 N NaOH	234 (13.1), 258 (14.2), 286s (5.4).	-	6.9
	3 N HCl	208 (11.3), 221 (10.0), 252 (9.4), 285 (4.9).	+	4.4
" f	1 N NaOH	237 (19.0), 266 (37.6), 309s (6.2).	-	9.6
	Puffer pH 8.6*	238s(22.0), 258 (30.8).	-	6.8
	Puffer pH 4.0	208 (23.6), 228 (19.2), 251 (20.0), 285 (8.2).	O	——
	6 N HCl	237 (24.5), 225 (17.1), 251 (18.8), 282 (8.1), 370 (2.2).	+	1.7
" g	Methanol	205 (18.8), 227 (15.6), 249 (16.1), 285 (6.5), 361 (1.7).	O	——
	1 N NaOH	228 (13.2), 261 (20.0), 300s (5.1).	-	7.1
	TFE	305 (5.6), 383 (2.4).	+	——
" h	Methanol	—— Ausfällung ——	O	——
	1 N NaOH	223 (21.9), 255 (24.2), 285s (8.0). 325 (3.2).	-	——
	3 N HCl	—— Ausfällung ——	+	——

s = Schulter

* = Phosphat-Puffer

3.2. Struktur und spektrale Eigenschaften oxidierter 5-Thiaflavine

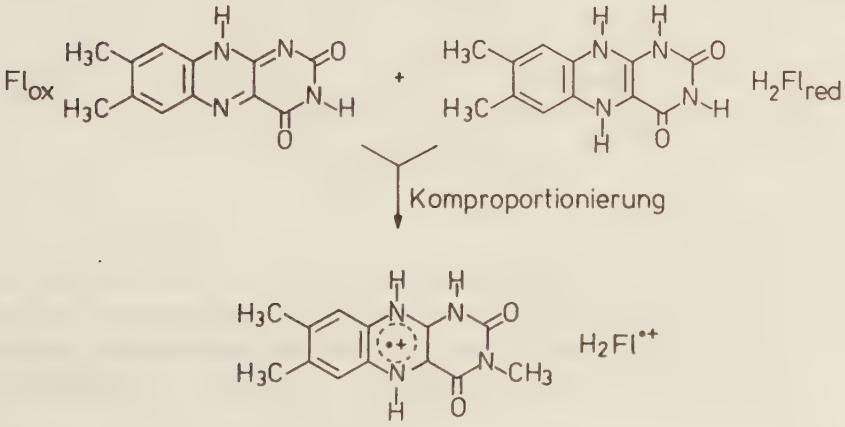
3.2.1. Ein-Elektronen-Oxidation zum 5-Thiaflavin-Radikal $sFl^{\bullet}$

Im halbreduzierten Zustand sind die 2,4-Dioxo-pyrimido-benzothiazine isoelektronisch und isochrom mit den natürlichen Flavin-Radikalen [89].

3.2.1.1. Die Semichinon-Stufe des natürlichen Flavins

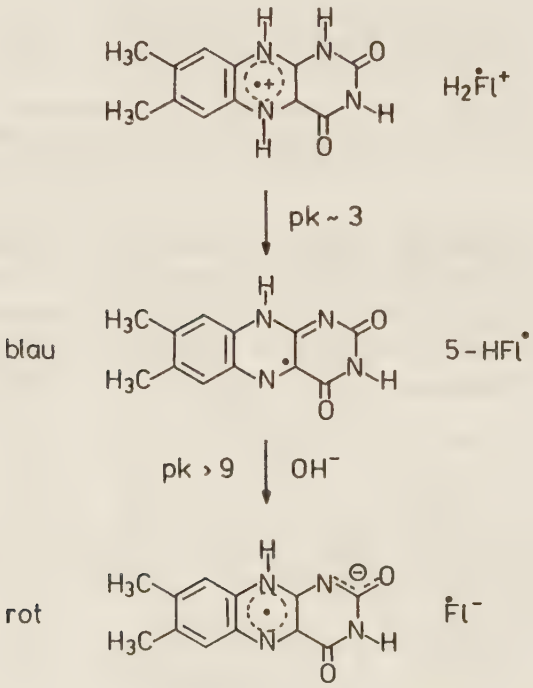
Nachdem Struktur und Eigenschaften der Flavosemichinone ausführlich untersucht worden sind [95-103] liegen folgende Ergebnisse vor:

Das Gleichgewicht der Komproportionierung von reduziertem und oxidiertem Flavin kann in saurer Lösung zugunsten der Bildung des roten Radikal-Kations ($Fl^{\bullet}H_2^{+}$), dessen Isolierung als "Rhodoflavin" in stark saurer Lösung gelang [103], verschoben werden.



Mit Hilfe von in 5-bzw. 1/2α- Position durch Alkylierung blockierte Vergleichssubstanzen konnten folgende Tautomerenstrukturen der Neutralradikale gefunden werden:

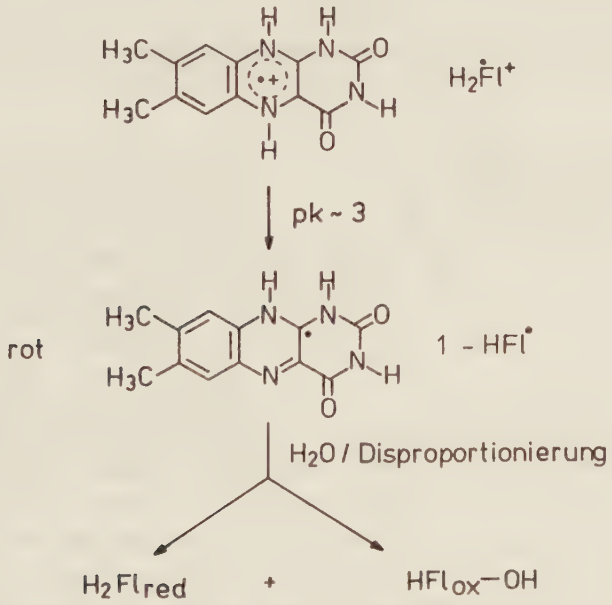
Aus dem Radikal-Kation entsteht zum einen durch Neutralisation das stabile blaue Neutralradikal 5-HFl$^{\bullet}$ (λ_{max} = 580 nm) und durch dessen Deprotonierung im Alkalischen das ebenfalls stabile rote Fl^{-} (λ_{max} = 470 nm).



Die Stabilität dieser beiden Radikale wird durch N(5)-Blockierung erhöht. Dadurch kommt es zu einer Unterdrückung des Zwei-Elektronen-Transfers, während der Ein-Elektronen Transfer bevorzugt wird.

Zum anderen erhält man als zweites Tautomeres das instabile rote 1-H-Fl$^{\cdot}$ (λ_{max} = 470 nm), das aufgrund der erhöhten Acidität am N-1 und der großen Basizität am N-5-Atom sehr leicht im wässrigen Milieu disproportioniert.

Durch Blockierung des einsamen Elektronenpaares an N(1) oder O(2α) wird das Radikal destabilisiert und damit der Ein-Elektronen-Transfer unterdrückt.

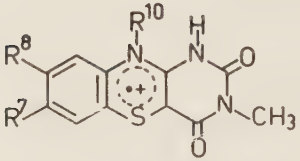


Im Flavoprotein ist durch die Bildung "gerichteter" Wasserstoffbrücken zwischen Apoprotein und N(5) oder N/O-(1/2α) eine Steuerung in Richtung des $1e^-$- oder $2e^-$-Transfers möglich[12].

3.2.1.2. Struktur und Stabilität der modifizierten Thiaflavin-Radikal-Kationen

Die 5-Thiaflavin-Radikale können als Analoge der 5-H-Fl$^{\bullet}$-Radikale angesehen werden - auch sie zeichnen sich durch eine vergleichsweise hohe Stabilität aus -.

Die saure Oxidation der Dihydro-Thiaflavine führt zur Bildung der dunkelrot gefärbten Radikal-Kationen 71.



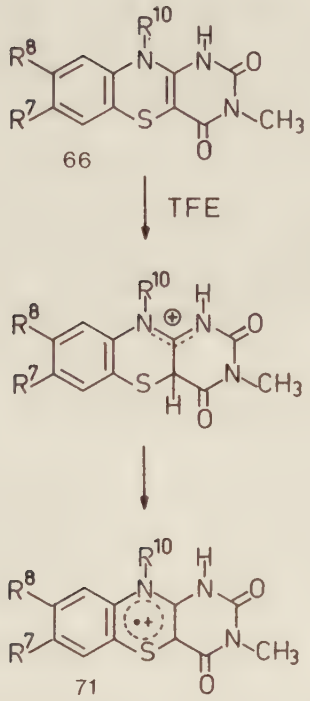
71

71	R^7	R^8	R^{10}
a	CH_3	CH_3	C_2H_5
b	Cl	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
d	CH_3	NH_2	C_2H_5
f	CH_3	OH	C_2H_5
g	CH_3	OCH_3	C_2H_5
h	CH_3	OCH_3	CH_3

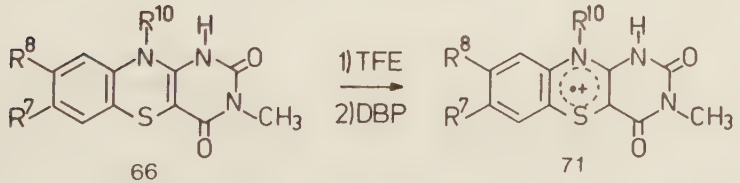
Ziel von UV-spektroskopischen Untersuchungen war es, Auskunft darüber zu erhalten, in welchem Maße der 8-ständige Donator die Bildung und die Stabilität von 71 beeinflußt.

Die Darstellung der Radikal-Kationen gelingt über folgende Oxidations-Reaktionen:

1) Die Thiaflavine 66 werden in Trifluoressigsäurelösung langsam durch Autoxidation (4-8 Tage) in die Radikalkationen 71 überführt.

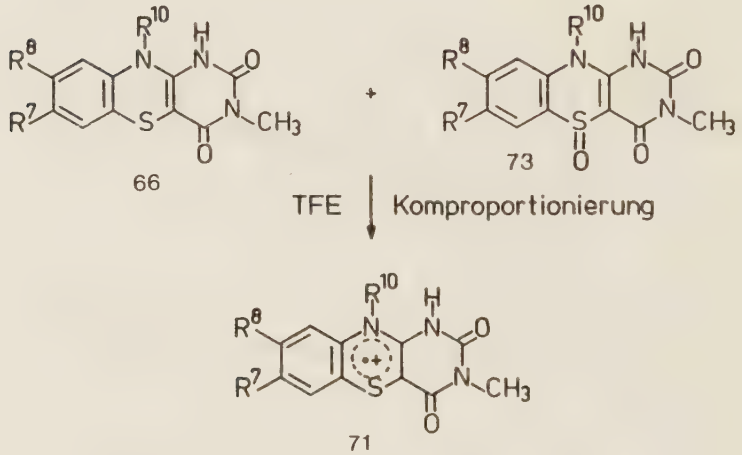


2) Das Radikal-Kation 71 entsteht spontan durch Oxidation von 66 mit Dibenzoylperoxid (DBP) in TFE, wobei jedoch nur äquimolare Mengen an DBP zugesetzt werden dürfen, da bei Reagenzüberschuß 4a-Adduktbildung erfolgt.



3) Die Oxidation in konzentrierter Schwefelsäure führt ebenfalls zur Bildung des Radikal-Kations 71. In diesem Falle erfolgt Autoxidation rascher als bei der unter 1) beschriebenen durch Luftsauerstoff.

4) Entsprechend der $H_2Fl^{\cdot}$-Bildung im natürlichen Flavin-System, entsteht auch das Thiaflavin-Radikal-Kation 71 durch Komproportionierung der entsprechenden reduzierten Verbindung 66 mit dem dazugehörigem Sulfoxid 73.



Der Vergleich der Elektronenspektren der 8-ständigen Donator-substituierten Spezies 71b-h mit dem Chromophor des Lumiflavin-analogen Radikal-Kations 71a ergibt eine deutliche Einflußnahme des 8-ständigen Substituenten auf die Kation-Radikal-Bildung (Tab.11).

Durch die in saurer Lösung protoniert vorliegende 8-Amino- bzw. 8-Dimethylamino-Gruppe ist im Vergleich zum 8-Methyl-substituierten Thiaflavin die Oxidation zu 71 erschwert. Es erfolgt keine Autoxidation in Trifluoressigsäure. Erst nach äquimolarem Zusatz von Dibenzoylperoxid bildet sich das für Kation-Radikale typische langwellige Maximum, das jedoch gegenüber dem 7,8-methylierten Derivat 71a eine hypsochrome Verschiebung um etwa 50 nm erfährt. Dies ist dadurch zu erklären, daß durch Protonierung der 8-Amino- bzw. 8-Dimethylamino-Gruppe die Konjugation mit dem π-System des Benzolringes aufgehoben ist.
Die Oxidation in konzentrierter Schwefelsäure, sowie die Komproportionierung ist ebenfalls erschwert (Abb. 20 u. 21).

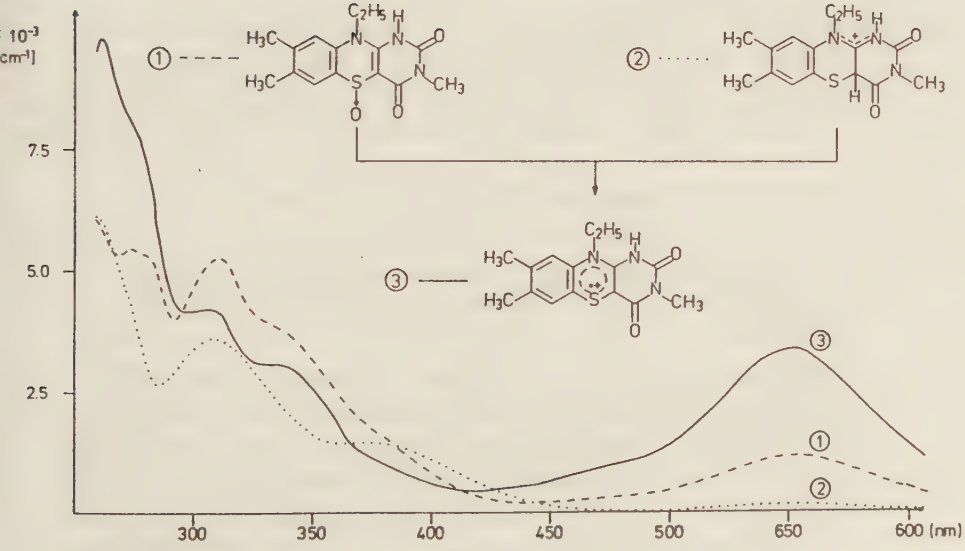


Abb. 20: UV/VIS-Spektrum von 66a, 73a und 71a (Komproportionierung)

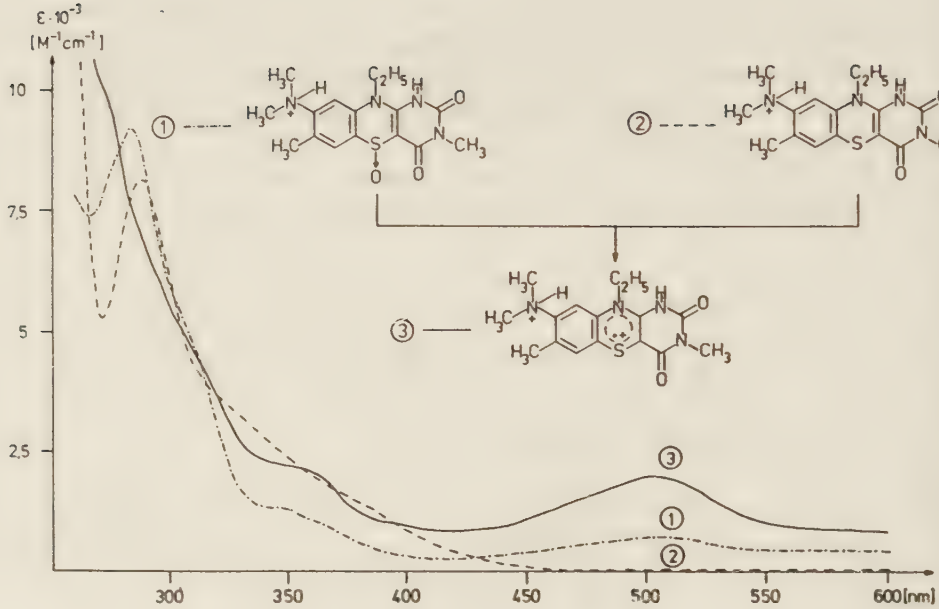


Abb. 21: UV/VIS-Spektrum von 66c, 73c und 71c (Komproportionierung)

Dagegen kann man eine Autoxidation der Verbindungen 66f/g in Trifluoressigsäure UV-spektroskopisch nachweisen (innerhalb von 24h). Die Resonanzbeteiligung der freien Elektronenpaare der 8-ständigen Hydroxy- bzw. Methoxy-Gruppe der Verbindungen 71f und 71g bewirken eine bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums um 80 nm, das im Vergleich zum 8-Methyl-Kation-Radikal 71a eine um etwa den Faktor 2 höhere Intensität aufweist (Abb. 22).

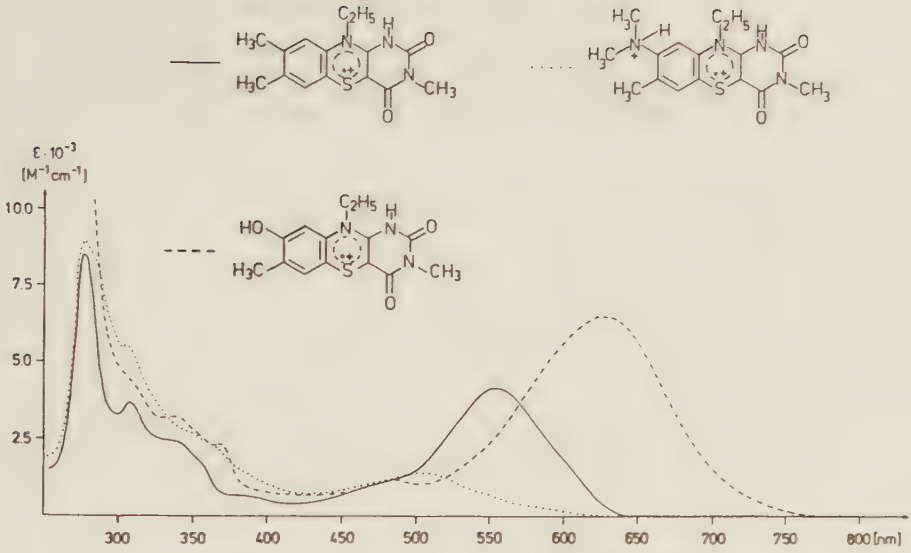


Abb. 22: UV/VIS-Spektrum der Autoxidation von 66a, 66b und 66f zu ihren Radikalkationen 71a, 71b und 71f in TFE

Oxidation mit Dibenzoylperoxid in Trifluoressigsäure bewirkt eine raschere Bildung der Chromophore mit der gleich hohen Intensität der langwelligen Absorptionsmaxima bei 640 nm wie bei der Oxidation in TFE.

Bei der Autoxidation in konzentrierter Schwefelsäure tritt neben dem langwelligem Absorptionsmaximum bei etwa 650 nm ein zweites Maximum bei etwa ca. 500 nm auf.
Innerhalb von 24 Stunden verschwindet das erste Maximum zugunsten des neuen Maximums bei 550 nm, das dem Chromophor des Thiazonium-Kations entspricht. Daraus ist zu schließen, daß die Oxidationsempfindlichkeit von 66f, g und h aufgrund des Effekts der 8-Hydroxy- bzw. 8-Methoxy-Substituenten derart erhöht ist, daß Autoxidation in konz. Schwefelsäure über den Ein-Elektronen-Schritt hinaus zum Thiazonium-Kation erfolgt (Abb. 23/24).

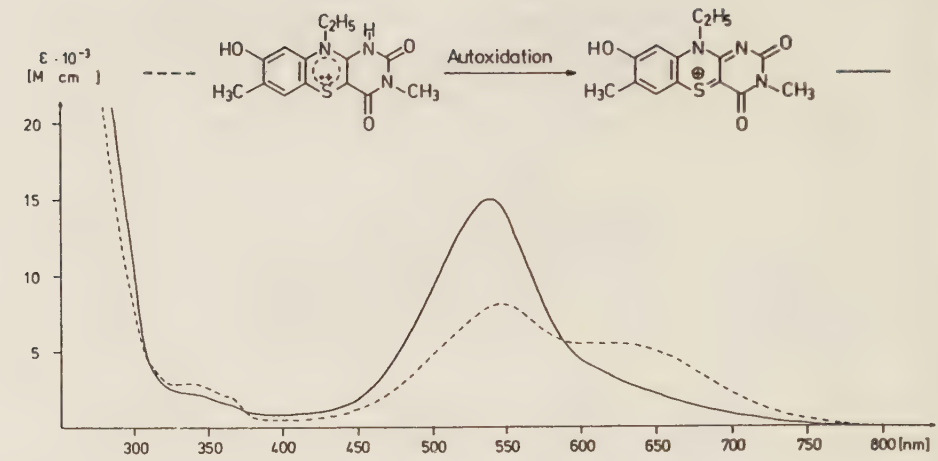


Abb. 23: UV/VIS-Spektrum von 71f zu 74f in konzentrierter Schwefelsäure (Autoxidation)

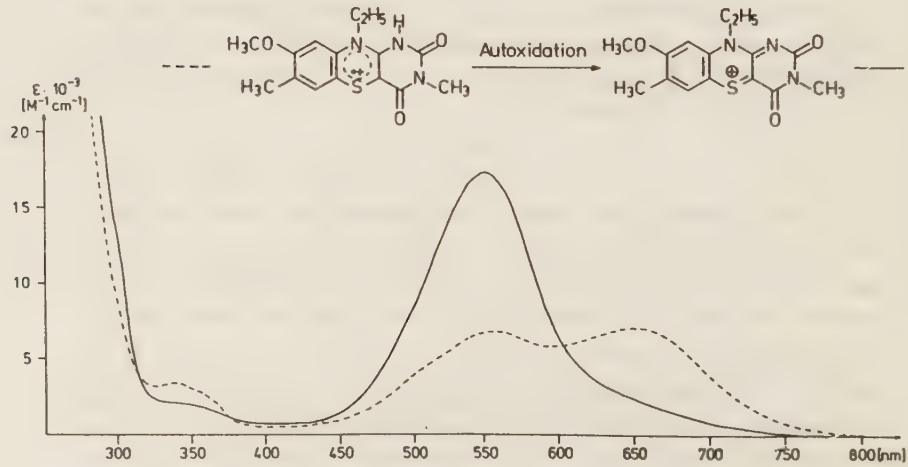


Abb. 24: UV/VIS-Spektrum von 71g zu 74g in konzentrierter Schwefelsäure (Autoxidation)

Tabelle 11: UV/VIS-Spektren der Radikal-Kationen 71a-h

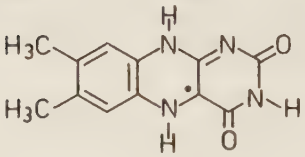
Verbindung	Substituenten R^7	R^8	R^{10}	Oxid.-mittel	Elektronenspektren λ_{max} in nm (ε M^{-3} cm^{-1})
71a	CH_3	CH_3	C_2H_5	A/B	276(11.1), 307 (5.2), 554 (5.4).
" b	Cl	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	A	260(16.4), 288(10.3), 335 (3.8)
				C_2	281(21.0), 315s(7.4), 550(12.6), 615s(8.8).
" c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	B_1	278 (8.9), 305 (5.5), 505 (1.4).
" d	CH_3	NH_2	C_2H_5	A	270 (1.1), 288 (4.6), 332s(1.9).
				D_2	261 (8.7), 305s(2.1), 345 (1.8), 355 (1.7), 506 (2.3).
" f	CH_3	OH	C_2H_5	A/B	270(14.0), 336 (3.3), 367 (2.5), 487 (1.2), 627 (6.4).
				C_1	274(23.0), 340 (3.0), 365 (2.1), 547 (8.1), 627 (5.4).
				C_2	206(17.3), 237(18.9), 274(30.0), 340s(2.2), 539(14.9).
" g	CH_3	OCH_3	C_2H_5	B	272(22.0), 339 (4.4), 366 (2.5), 495 (2.0), 639(12.0).
				C_1	275(31.0), 340 (3.4), 355 (2.9), 557 (6.8), 651 (7.1).
				C_2	275(35.0), 340s(2.1), 550(17.3).
" h	CH_3	OCH_3	CH_3	B	270(30.0), 340 (5.1), 366s(2.8), 489 (1.8), 645(12.3).
				C_1	341 (3.8), 555(10.7), 655 (7.5).
				C_2	335s(2.9), 553(18.4).

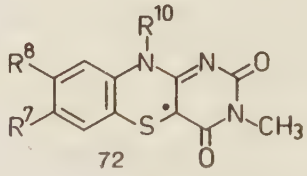
A = TFE, B_1 = TFE/DBP sofort gemessen, C_1 = H_2SO_4 konz. sofort,
B_2 = TFE/DBP nach 4 d " C_2 = " nach 4 d gemessen

s = Schulter

3.2.1.3. Struktur und Stabilität der 8-ständigen Donator-substituierten Neutralradikale

Durch Deprotonierung gehen die Radikal-Kationen in die tiefgrün gefärbten Neutralradikale über, die von der Struktur her mit der tautomeren Form des neutralen blauen Radikals des Flavins (5-HFl˙) vergleichbar sind.





72

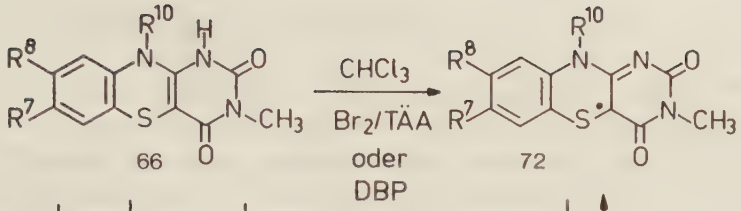
Das in wässrigem Milieu durch Deprotonierung erhaltene Neutralradikal ist derart instabil, daß es mit einer Halbwertzeit von ca. 6 Minuten disproportioniert.
Dagegen ist es in aprotischen Lösungsmitteln stabil und bildet nach Ansäuern wieder das korrespondierende Radikal-Kation.

Auch steht das Neutralradikal in einem Konzentrations- und Lösungsmittel-Gleichgewicht mit seinem Dimeren $(sFl)_2$, für das die Struktur sFl-4a-4a'-sFl' nachgewiesen wurde [89].

Die Neutralradikale werden auf zwei verschiedenen Wegen hergestellt.

1) Die reduzierte Spezies wird mit Br_2 in Chloroform als aprotisches Lösungsmittel oxidiert. Dabei ist der Zusatz eines Protonenfängers, wie z.B. Triethylamin, notwendig.

2) Das in Chloroform gelöste Dihydro-Thiaflavin wird mit einer äquimolaren Menge an DBP oxidiert.



72	R^7	R^8	R^{10}
a	CH_3	CH_3	C_2H_5
c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
d	CH_3	NH_2	C_2H_5
f	CH_3	OH	C_2H_5
g	CH_3	OCH_3	C_2H_5

Beim Vergleich der Elektronenspektren macht sich erneut der Einfluß der 8-ständigen Donatoren bemerkbar (Tabelle 12).

Den Neutralradikal-Chromophoren kann ein sehr langwelliges Absorptionsmaximum bei 650 -750 nm zugeordnet werden. Anhand der Intensitäten kann man feststellen, daß die Radikalbildung in neutraler Lösung rascher und vollständiger bei den Donator-substituierten Verbindungen 72c-g im Vergleich zu der Lumiflavin-analogen Verbindung 72a erfolgt.

Die Radikalbildung ist beim 8-Dimethylamino-Derivat am ausgeprägtesten (Abb.25), während sie bei der 8-Methoxy-Verbindung 72g am schwächsten ist.

$$-OCH_3 < -OH < -NH_2 < -N(CH_3)_2$$

Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit bei der Radikalbildung

Die Umsetzung der Verbindungen 66b führt zu keiner registrierbaren Neutralradikalbildung, was auf den -I-Effekt des 7-ständigen Chloratoms zurückzuführen ist.

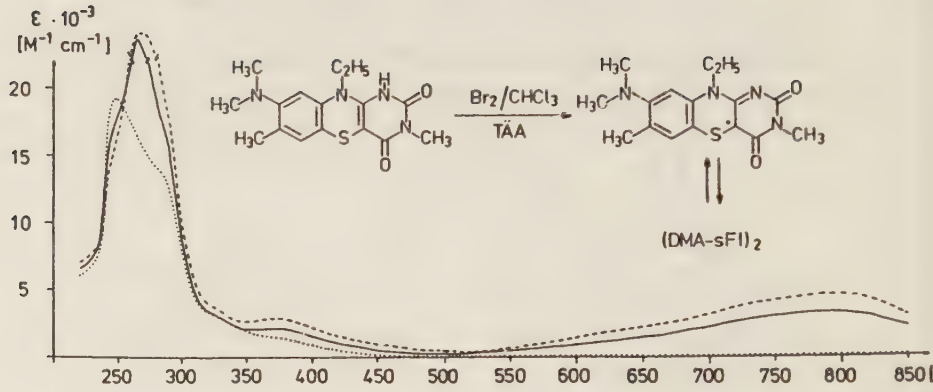


Abb. 25: UV/VIS-Spektrum von 72c in $CHCl_3$

Tabelle 12: UV/VIS-Spektren der Neutral-Radikale 72

Verbindung	Substituenten R^7	R^8	R^{10}	Oxid.-mittel	Elektronenspektren λ_{max} in nm (ε M^{-3} cm^{-1})
72a	CH_3	CH_3	C_2H_5	A	257(11.6), 288 (9.5), 320 (3.1), 753 (0.9).
" c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	A	271(30.5), 372 (2.9), 792 (4.6).
" d	CH_3	NH_2	C_2H_5	A	255(14.8), 272s(11.2), 736(3.0).
" f	CH_3	OH	C_2H_5	A	271(19.6), 592 (4.8), 690 (2.3).
" g	CH_3	OCH_3	C_2H_5	A	228 (2.7), 567 (2.7), 665 (2.6).

A = $Br_2/CHCl_3$

s = Schulter

3.2.2. Zwei-Elektronen-Oxidation

Im Flavin-System stellt die oxidierte Stufe (Fl_{ox}) die stabilste Form dar. Jedoch ist das oxidierte Flavin nur bei der (De)hydrogenierung an der Flavin-abhängigen Oxidoreduktion beteiligt und ist Endprodukt der Reaktion von H_2Fl_{red} mit O_2 bei der O_2-Aktivierung. Der Ein-Elektronen-Transfer läuft nur über die Semichinon- und Dihydro-Stufe ab [105-110].

Folgende Spezies sind der oxidierten Stufe des Thiaflavins zuzuordnen:

1) Das Thiaflavin-Sulfoxid 73 entsteht im wässrigen Milieu neben dem Dihydro-Thiaflavin bei der Disproportionierung des Neutralradikals bzw. Thiaflavin-Dimeren.
Es ist durch eine intensive Absorptionsbande unter 320 nm charakterisiert.

2) Erfolgt die Disproportionierung in Methanol, erhält man das in 4a-Stellung mit einer Methoxy-Gruppe substituierte Thiaflavin 75c, das mit der Dimeren-Struktur sFl-4a,4a'-sFl' vergleichbar ist.
Charakteristisch für beide Systeme ist die schwache Absorptionsbande der C^4=O-Schwingung im IR-Spektrum, die mit einer hypsochromen Verschiebung einhergeht. Ebenso ist das langwellige Absorptionsmaximum (s. 4a-Cl-Thiaflavin 64) bei etwa 350 nm ein Indiz für 4a-Substitution. Dabei ist mit zunehmender Größe des Substituenten das Absorptionsmaximum bathochrom verschoben, während die Extinktion parallel dazu abnimmt [89] (Tabelle 13).

3) In konzentrierter Schwefelsäure liegt das Sulfoxid in Form des Thiazonium-Kations 74 vor, das am ehesten der chinoiden oxidierten Form des Flavins formal entspricht.

Tabelle 13: IR-Absorptionen [cm^{-1}] und UV/VIS-Spektren von 4a-substituierten Thiaflavinen

Substituenten in Position		Elektronenspektrum λ_{max} ($\varepsilon\ 10^{-3}$ M cm^{-1})	IR-Absorption in [cm^{-1}]	
4a	10		C^2=O	C^4=O
OCH_3	CH_3	329 (8.3)	1710	1665
OCH_3	C_2H_5	332 (6.1)	1714	1658
C_8H_7	CH_3	334 (4.6)	1715	1670
$(sFl)_2$	CH_3	368 (3.8)	1715	1665

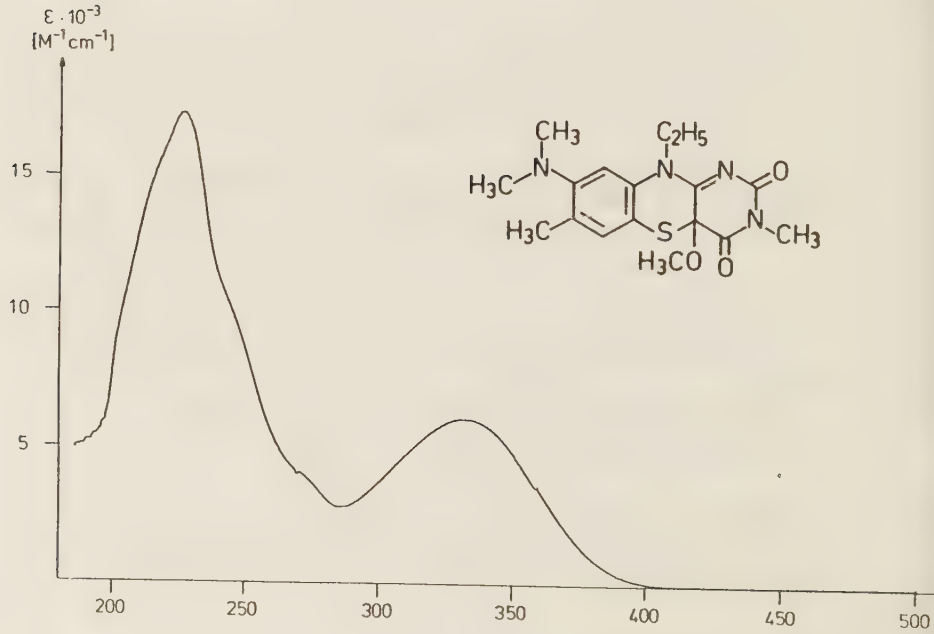


Abb. 26: UV/VIS-Spektrum von 75c

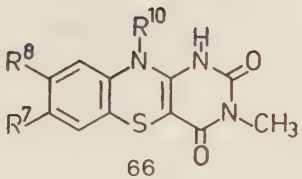
3.2.2.1. Struktur und Stabilität 8-substituierter Thiaflavin-Sulfoxide

Zur Darstellung der Thiaflavin-Sulfoxide sind drei verschiedene Synthesewege geeignet:

1) Das entsprechende 4a-Cl-Thiaflavin 64 reagiert in einem Methanol/Wassergemisch (1:1) bei Raumtemperatur zum Sulfoxid.

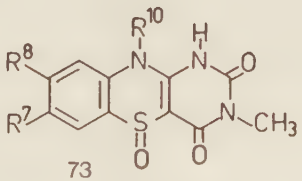
2) Das Dihydro-Thiaflavin 66 wird mit Wasserstoffperoxid in Aceton zum Sulfoxid oxidiert.

3) Bei der Oxidation von 66 mit 85%iger m-Chlorperbenzoesäure (3-CPBA) in Chloroform erhält man beim Einsatz des Reagenzes in äquimolaren Mengen das Sulfoxid 73, während man bei überschüssiger Zugabe ein Gemisch aus Sulfon und Sulfoxid erhält, was durch die Massen- und IR-Spektren (Auftreten von für Sulfon-Gruppen charakteristischen Absorptionen zwischen 1300 und 1380 cm^{-1}) belegt wird.



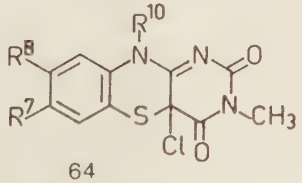
66

② H_2O_2
③m-CPBA



73

① MeOH/H_2O



64

73	R^7	R^8	R^{10}
a	CH_3	CH_3	C_2H_5
c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
f	CH_3	OH	C_2H_5
g	CH_3	OCH_3	C_2H_5

3.2.2.2. Spektroskopische Daten der Sulfoxide 73

Im ^{1}H-NMR-Spektrum macht sich der Einfluß der Sulfoxid-Gruppe durch eine deutliche Tieffeldverschiebung aller Protonen bemerkbar (Tab. 14).
Die IR-Spektren zeigen zum einen die typische Sulfoxid-Bande bei 1030 - 1070 cm^{-1}, zum anderen macht sich auch hier der Einfluß der S=O-Gruppe bemerkbar, was sich in einer deutlichen Verschiebung der C^2=O- und C^4=O-Absorptionen zu höheren Wellenzahlen wiederspiegelt (Tab. 15).
In den Massenspektren zeigen alle Thiaflavin-Sulfoxid-Derivate aufgrund der leichten Sauerstoff-Eliminierung einen Molpeak geringer Intensität. Als stabiles Fragmentierungsprodukt tritt das 2,4-Dioxo-pyrimidobenzothiazin-Ion auf, das nach dem bereits beschriebenen Mechanismus weiter abgebaut wird (Abb. 27).

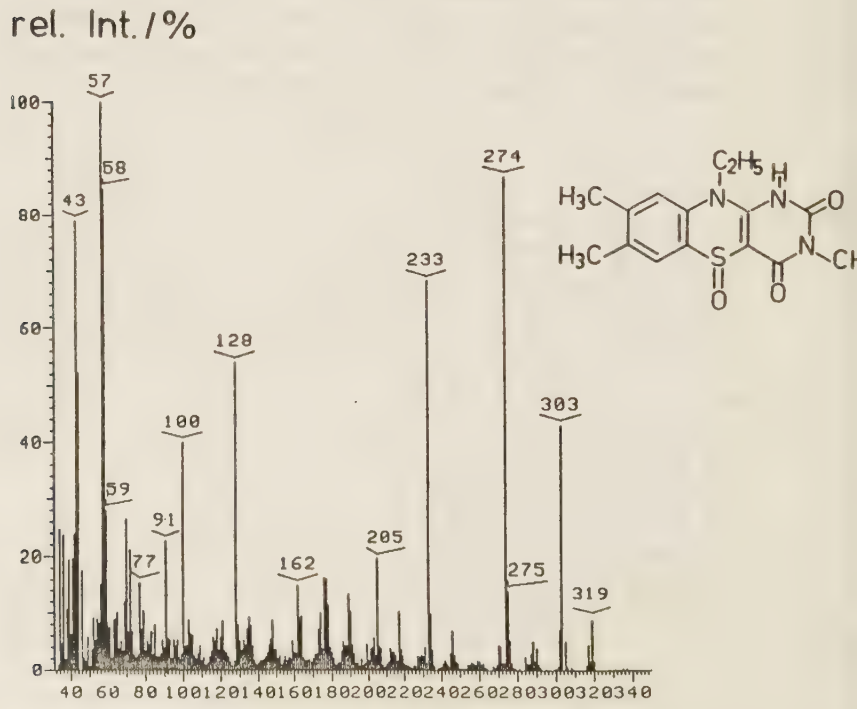


Abb. 27: Massenspektrum von 73a

Tabelle 14: ^{1}H-NMR-Daten der Thiaflavin-Sulfoxide 73

Verbindung	Substituenten in Position			Lösungsmittel	^{1}H-NMR-Signale (δ-Werte) der Protonen						
	R^7	R^8	R^{10}		1	3	6	7	8	9	10
66a	CH_3	CH_3	C_2H_5	$DMSO_{d6}$	11.72	3.21	7.67	2.30	2.38	7.56	1.24t 4.37q
" c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	$DMSO_{d6}$	11.42	3.14	7.55	2.24	2.72	6.98	1.21t 4.32q
" f	CH_3	OH	C_2H_5	$DMSO_{d6}$	11.51	3.17	7.24	2.11	9.72	6.99	1.27t 4.28q
" g	CH_3	OCH_3	C_2H_5	DMF_{d7}	11.41	3.21	7.64	2.21	3.97	7.06	1.29t 4.60q

Tabelle 15: IR-Absorptionen [cm^{-1}] der Thiaflavin-Sulfoxide 73

Verbindung	Substituenten in Position			IR-Absorptionen in Wellenzahlen [cm^{-1}]		
	R^7	R^8	R^{10}	C^2=O	C^4=O	S=O
73a	CH_3	CH_3	C_2H_5	1640	1701	1039
" c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	1650	1720	1070
" f	CH_3	OH	C_2H_5	1654	1710	1065
" g	CH_3	OCH_3	C_2H_5	1638	1705	1031

UV-spektroskopische Untersuchungen

Die Absorptionsbanden der Anionen und der Neutralkörper zeichnen sich durch besonders intensive Maxima aus. In saurer Lösung (TFE, 3 N HCl, 6 N HCl) erfolgt keine Protonierung der C-4a-Position.

In Tab. 16 sind die jeweiligen Absorptionsmaxima der verschiedenen Spezies wiedergegeben.

Die pK-Werte wurden elektronenspektroskopisch bestimmt. Die Sulfoxide erweisen sich als relativ starke Säuren mit einem pK-Wert für das N-1-Proton von 4.5 ± 0.3 (73a) bzw. 4.9 ± 0.3 (73c).

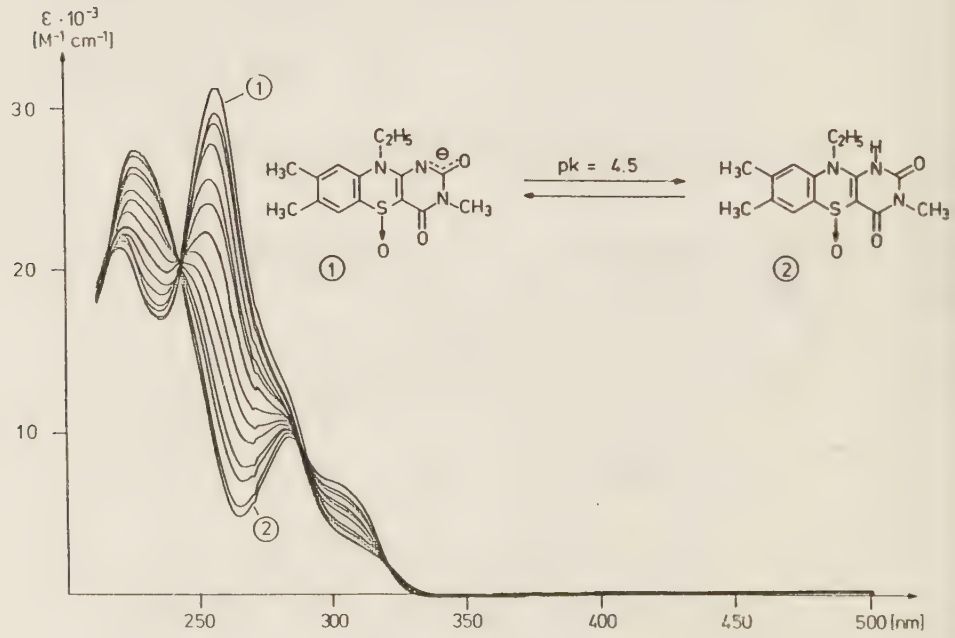


Abb. 28: UV/VIS-spektroskopische Bestimmung des pK-Wertes von 73a

Abb. 29: UV/VIS-spektroskopische Bestimmung des pK-Wertes von 73c

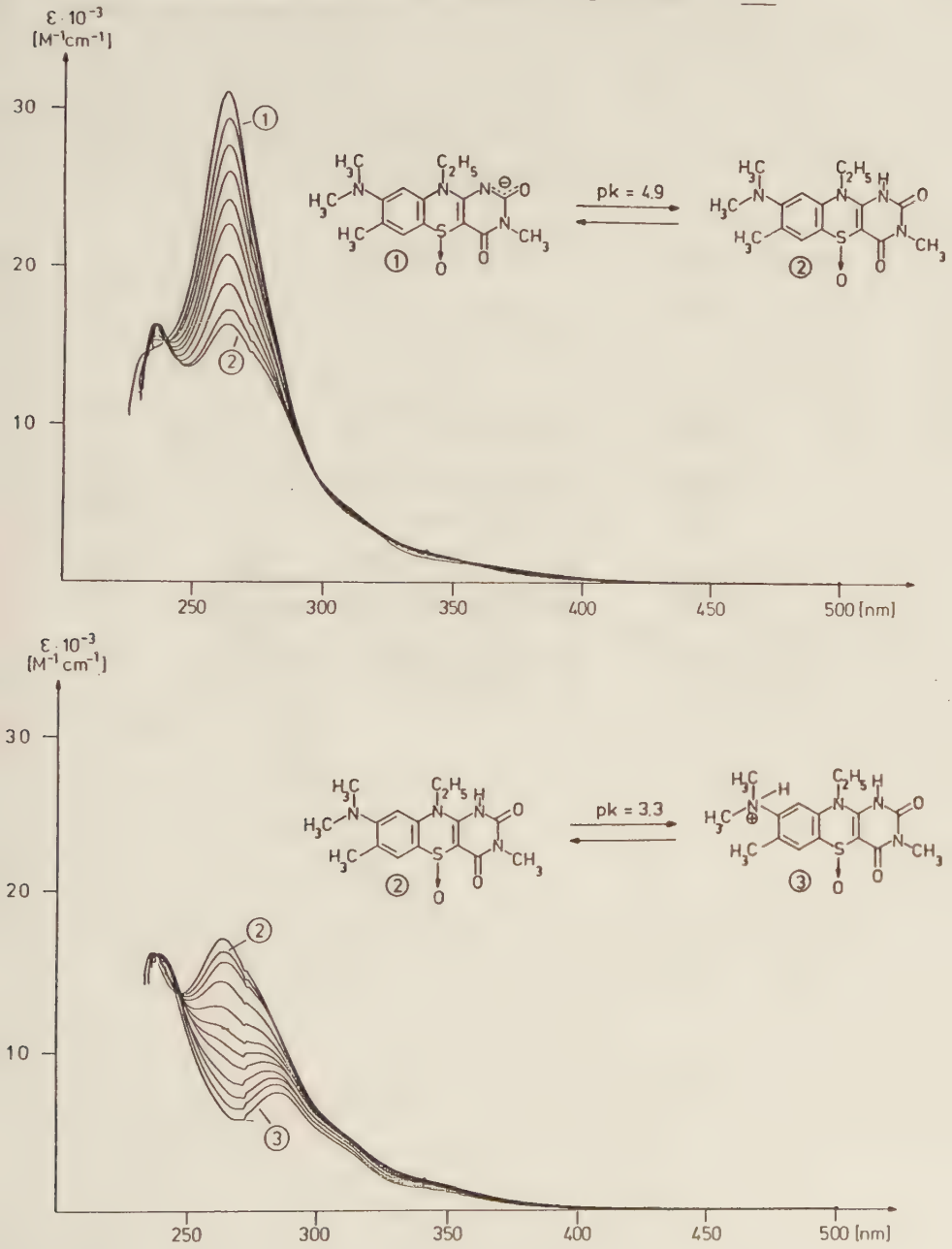


Tabelle 16: UV/VIS-Spektren der Thiaflavin-Sulfoxide 73

Verbindung	Lösungsmittel	Elektronenspektren λ_{max} in nm (ε M 10^{-3} cm^{-1})	Ladung	pK
73a	1 N NaOH	220 (21.4), 257 (31.2)	-	4.5
	3 N HCl	226 (27.4), 283 (9.7), 303s (6.6)	O	——
" c	Methanol	236 (16.3), 264 (16.3), 312s (4.5)	O	——
	1 N NaOH	262 (30.8)	-	4.9
	3 N HCl	236 (16.4), 285 (7.5)	+	3.3
" f	Methanol	314s (6.6), 326 (26.0)	-	——
	1 N NaOH	229 (16.6), 253 (40.5), 361s (5.2)	-	——
	6 N HCl	212 (20.4), 228 (20.2), 309s (5.9)	O	——
" g	1 N NaOH	226 (25.4), 256 (49.0), 287 (13.2)	-	——
	6 N HCl	208 (15.2), 230 (28.2), 252 (30.4), 291 (9.6).	O	——

s = Schulter

Die Donator-substituierten Dihydro-Thiaflavine 66b-h zeigen in alkalischer Lösung eine äußerst hohe Oxidationsempfindlichkeit gegenüber Luftsauerstoff. Es erfolgt spontan Autoxidation unter Bildung des Sulfoxids, im Gegensatz zum Lumiflavin-analogen 7,8-Methyl-substituierten Thiaflavin 66a, das keine Sauerstoffempfindlichkeit aufweist (Abb. 30).

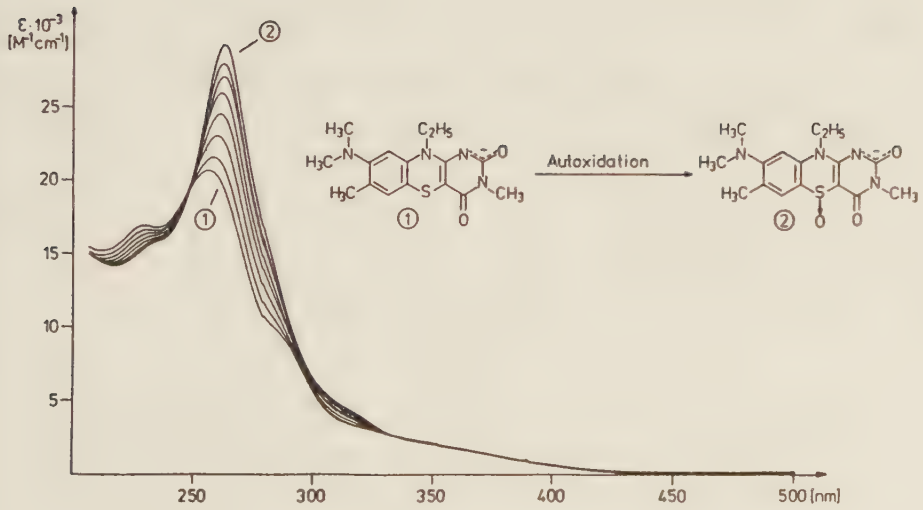
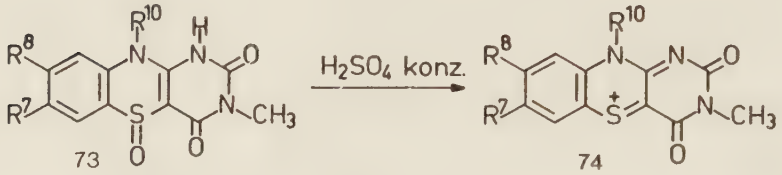


Abb. 30: Autoxidation von 66c zu 73c

3.2.2.3. Struktur und UV/VIS-spektroskopische Charakterisierung der Thiazonium-Kationen 74

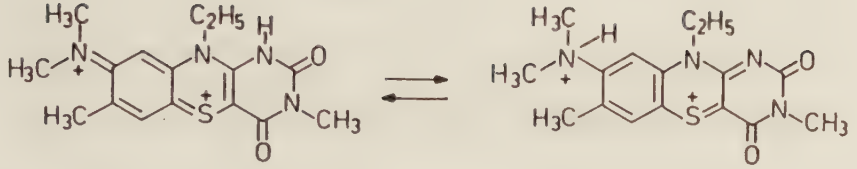
In konzentrierter Schwefelsäure werden aus den Sulfoxiden durch Dehydratisierung die Thiazonium-Kationen 74 erhalten. Sie sind relativ instabil und bilden durch Selbstreduktion langsam ihr Radikal-Kation [77].



74	R^7	R^8	R^{10}
a	CH_3	CH_3	C_2H_5
c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
d	CH_3	NH_2	C_2H_5
f	CH_3	OH	C_2H_5
g	CH_3	OCH_3	C_2H_5

Die Verbindungen 74 zeichnen sich durch eine langwellige Absorption aus. Charakteristisch für die 8-Hydroxy- bzw. 8-Methoxy-substituierten Thiazonium-Kationen 74f bzw 74g ist wieder die bathochrome Verschiebung der Absorptionsmaxima .

Für das 8-Dimethylamino- bzw. 8-Amino-substituierte System wird ein zusätzliches bathochrom verschobenes Maximum nachgewiesen (bei etwa 600 nm), das aus der Resonanz der beiden kationoiden Strukturen resultiert (Abb. 31/32 u. Tab. 17).



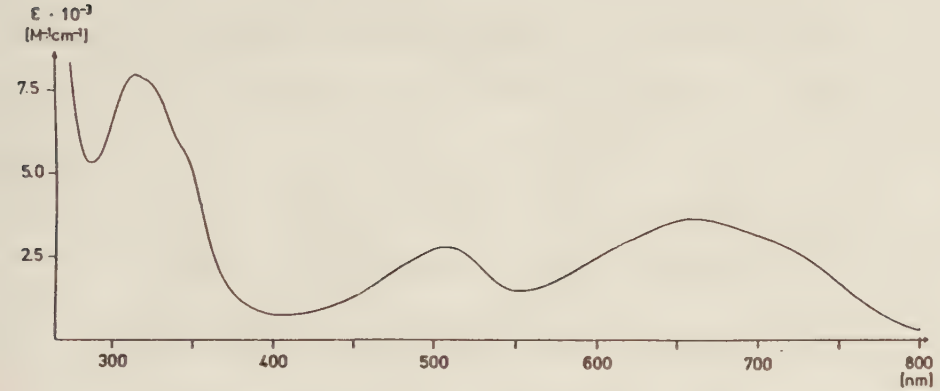


Abb. 31: UV/VIS-Spektrum von 74c in H_2SO_4 konz.

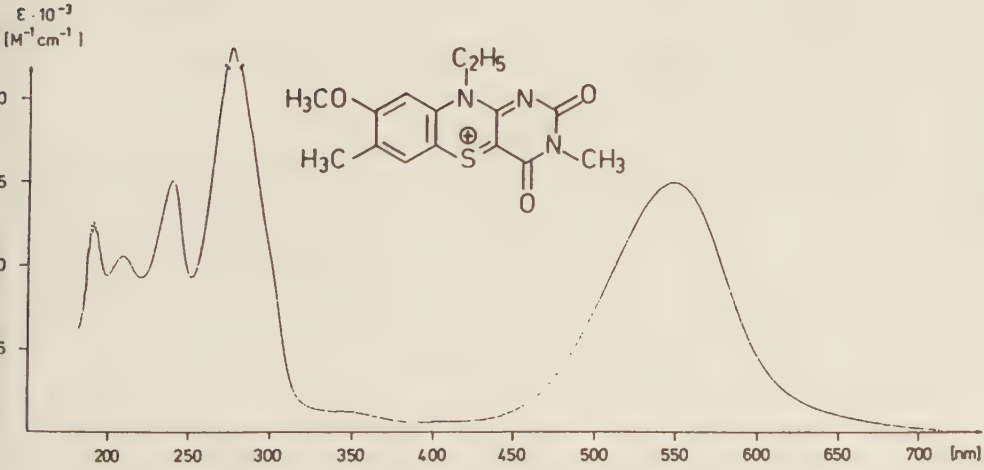


Abb. 32: UV/VIS-Spektrum von 74g in H_2SO_4 konz.

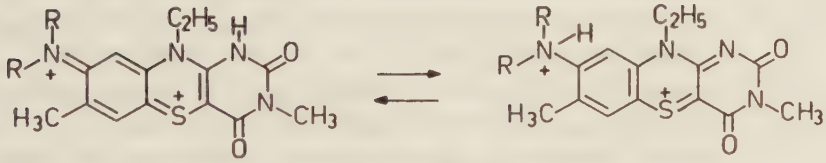
Tabelle 17: UV/VIS-Spektren der Thiazonium-Kationen 74

Verbindung	Substituenten in Position R^7	R^8	R^{10}	Oxid.-mittel	Elektronenspektren λ_{max} in nm (ε M^{-3} cm^{-1})
74a	CH_3	CH_3	C_2H_5	A	270(15.2), 292(16.1), 510 (6.8).
" c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5	A	315 (8.0), 508 (2.8), 661 (3.7).
" d	CH_3	NH_2	C_2H_5	A	215(10.8), 260(10.0), 308 (4.7), 322 (4.4), 505 (3.2), 605 (1.8).
" f	CH_3	OH	C_2H_5	A	203(16.3), 237(14.4), 274(18.4), 538 (9.1).
" g	CH_3	OCH_3	C_2H_5	A	208(10.6), 239(15.0), 276(25.0), 548(15.0).

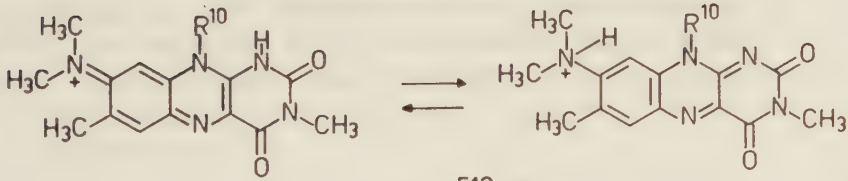
A = H_2SO_4 konz.

s = Schulter

In der Flavin-Reihe führt Dimethylamino-Substitution in Position 8 zu einem ähnlichen Chromophor:
Auch Roseoflavin [111] zeigt in stark saurer Lösung eine deutliche langwellige Verschiebung im Vergleich zum Flavin. Die Ähnlichkeit des Chromophors wird beim Strukturvergleich zwischen beiden 8-substituierten Systemen deutlich.



λ_{max} = 661 nm



λ_{max} = 519 nm

ROSEOFLAVIN

R = –H
–CH_3

4. Biochemisch-pharmakologische Untersuchungen 8-substituierter Thiaflavine

Untersuchungen zur Reaktivität der dargestellten Thiaflavine im Zusammenhang mit Sauerstoff-abhängigen Reaktionen im Arachidonat-Metabolismus haben gezeigt, daß durch die Substitution in 8-Position das Thiaflavin-Redoxsystem entscheidend verändert wird:

Während beim (reduzierten) 7,8-Methyl-Thiaflavin keine Beeinflussung des Arachidonat-Metabolismus erfolgt, erweist sich das 8-Dimethylaminothiaflavin in "in-vitro-Modellen" mit entzündungsrelevanten Zellen (Peritoneal-Makrophagen) [112] als potenter Aktivator der Lipoxygenase-abhängigen Reaktionen von ^{14}C- markierter Arachidonsäure.[113/114].

Untersuchungen zur Relevanz dieser Ergebnisse im Zusammenhang mit der Rolle der Leukotriene als Mediatoren bei Entzündungs- und Immunreaktionen werden zeigen, ob die dargestellten Thiaflavine geeignete Modell-Substanzen für die Aufklärung Sauerstoff-abhängiger Mechanismen - bei der Flavoprotein-haltigen Lipoxygenase und anderen hier beteiligten Enzymen - sind.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wird über die Synthese, Reaktivität und spektrale Charakterisierung bisher nicht bekannter 8-Donator-substituierter 2,4-Dioxo-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-Derivate (5-THIAFLAVINE) berichtet.

Die Redox-Eigenschaften und die Azidobasizität dieser modifizierten 5-Thiaflavine wurden untersucht und mit dem 10-Ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-3,7,8-trimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin (= 7,8-Dimethyl-Thiaflavin), das dem Lumiflavin analog ist, verglichen.

Die Synthese der 8-ständig substituierten 5-Thiaflavine erfolgt durch Zusammenschmelzen von schon in der späteren 8-Position substituierten N-Alkylanilinen mit 3-Methyl-6-chloruracil unter Bildung der entsprechenden 6-Anilinouracile. Deren Cyclisierung mit Thionylchlorid führt zur Bildung eines Isomerengemisches, das aus den 6- und 8-substituierten 4a-Cl-Thiaflavinen besteht. Anschließende Reduktion mit Hydrazinhydrat führt zu 5-Thiaflavinen. Die außerdem gebildeten Isomeren können säulenchromatographisch oder durch Umkristallisieren abgetrennt werden.

Der Strukturbeweis aller Verbindungen wird mit Hilfe spektroskopischer Daten geführt. Die einzelnen Spezies der 5-Thiaflavine werden UV-mäßig charakterisiert.

Es wird der Einfluß der 8-ständigen Donatoren auf den Reaktionsverlauf der Cyclisierung in Abhängigkeit von dem in der Reaktionslösung vorliegenden pH-Wert diskutiert.
Unter anderem müssen im Sauren die Reaktionsbedingungen variiert werden und es kommt zu einer verstärkten Bildung des 6,7-Isomeren.
Die oxidierten Stufen des 5-Thiaflavin-Systems bilden die Neutralradikale und Radikal-Kationen, sowie das Sulfoxid und das der chinoiden Stufe des Flavins formal analoge Thiazonium-Kation.

Die Darstellung stabiler Radikale gelingt durch Oxidation der Dihydro-Thiaflavine.
Die saure Oxidation führt zur Bildung des Radikal-Kations, während man im neutralen aprotischen Lösungsmittel die stabilen Neutralradikale erhält.
Die Darstellung des Sulfoxids erfolgt durch Oxidation des reduzierten Thiaflavins oder Reaktion des 4a-Cl-Derivates in einem Methanol/Wasser-Gemisch.
Anschließend werden die modifizierten Sulfoxide spektral identifiziert.
Die schwefelsaure Lösung der Sulfoxide ergibt das instabile Thiazonium-Kation.
Aus den UV-spektroskopischen Untersuchungen der radikalischen und der oxidierten Verbindungen zur Redoxaktivität der Donator-substituierten Thiaflavine ergibt sich, daß im neutralen (physiologischen) Bereich das Donator-substituierte Thiaflavin ein besseres Modell für Flavin-abhängige Elektronen-Transfer-Reaktionen ist. Die Donator-Substitution in 8-Position bewirkt, daß das Neutralradikal rascher und vollständiger gebildet wird und sich durch eine größere Stabilität auszeichnet, als das entsprechende 7,8-Dimethyl-Thiaflavin-Radikal.
Im sauren Bereich ist die Reaktivität der 8-ständigen Amino- bzw. Dimethylamino-Gruppe durch Protonierung herabgesetzt, so daß die Radikal-Kation-Bildung erschwert wird.
Dagegen zeichnen sich die in 8-Stellung eine Hydroxy- bzw. Methoxy-Gruppe besitzenden Thiaflavine im stark sauren Milieu durch ihre äußerst hohe Oxidationsempfindlichkeit aus, was sich in einer sehr raschen und vollständigen Bildung ihrer Radikal-Kationen wiederspiegelt.
In alkalischer Lösung ist die Empfindlichkeit aller Derivate gegenüber Luftsauerstoff erhöht. Dies äußert sich u.a. in ihrer spontanen Autoxidation zum Sulfoxid.

Daraus ist zu schließen, daß die 8-ständigen Donatoren in der Lage sind, das Redox-Potential der 5-Thiaflavine zu erniedrigen.

EXPERIMENTELLER TEIL

1. Allgemeine Angaben..... 105

2. Synthese von 6-Chlor-3-methyl-2,4(1H,3H)-pyrimidindion (57)..... 107

3. Darstellung von N-Alkylanilin-Derivaten..... 107

3.1. Synthese der primären Amine (53f) und (53g), sowie deren Vorstufen (56f) und (56g)..... 107

3.2. Acetylierung der 3,4-disubstituierten Aniline..... 111

3.3. Synthese von 54b und 54c..... 117

3.4. Trifluoracetylierung der 3,4-disubstituierten Aniline..... 120

3.5. Synthese von 70c, 70d und 70e..... 122

3.6. 3,4-disubstituierte N-Alkylaniline (55)..... 125

4. Synthese von 3'4'-disubstituierten 6-Anilinouracilen (58)..... 135

5. Synthese von 5-Thiaflavinen (66 u. 67)..... 145

5.1. 4a-Chlor-2,3,4,5-tetrahydro-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4.b][1,4]benzothiazine (64,65)..... 145

5.2. 1,2,3,4-Tetrahydro-2,4-dioxo-10H-pyrimido-[5,4-b][1,4]benzothiazine (66 u. 67)..... 151

6. Oxidation der 5-Thiaflavine..... 162

6.1. 1,2,3,4-Tetrahydro-2,4-dioxo-10H-pyrimido-[5,4-b][1,4]benzothiazin-Radikal-Kation (71)..... 162

6.2. 2,3,4,5-Tetrahydro-2,4-dioxo-10H-pyrimido-[5,4-b][1,4]benzothiazin-Neutralradikal (72)..... 168

6.3. 1,2,3,4-Tetrahydro-2,4-dioxo-10H-pyrimido-[5,4-b][1,4]benzothiazin-5-oxid (73)..... 170

6.4. 2,3,4-Trihydro-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b]-[1,4]benzothiazin-5-ium (74)..... 175

6.5. Darstellung von 75c..... 176

7. Sonstige Verbindungen..... 178

1. Allgemeine Angaben

SCHMELZPUNKTE:
Linström-Gerät, nicht korrigiert.

ELEMENTARANALYSEN:
Automatischer C-H-N-Analyser der Fa. Perkin-Elmer im analytischen Laboratorium des pharmazeutischen Instituts der Freien Universität Berlin.

MASSEN-SPEKTREN:
Finnigan-MAT-Geräte CH-7A , 711 und 112 S.
Quellentemperatur ca. 170 ^{o}C, Ionisierungsenergie ca. 80 eV.
In Klammern angegeben ist die jeweilige Verdampfungstemperatur der Probe in ^{o}C.

IR-SPEKTREN:
KBr-Preßlinge oder Chloroform-Lösungen, Gitterspektrometer 621 der Fa. Perkin-Elmer.
Die Lage der Banden wird in Wellenzahlen (cm^{-1}) angegeben.
Verwendete Abkürzungen: s = stark, m = mittel, w = schwach.

^{1}H-NMR-SPEKTREN:
Bruker WP-60 bzw. WM-250, Aufnahme in den jeweils angegegebenen Lösungsmitteln (TMS als interner Standard). Angaben der chemischen Verschiebung erfolgen in ppm (δ_{TMS}-Skala).
Die Mulitiplizitäten sind mit s = Singulett, d = Dublett, dd = Doppeldublett, t = Triplett, dt = Doppeltriplett, q = Quartett, dq = Doppelquartett und m = Multiplett gekennzeichnet.

ELEKTRONEN-SPEKTREN:
Varian 635 M mit XY-Flachbrettschreiber 235 , sowie Varian Superscan 3 (Quarzküvetten).
Verwendete Abkürzungen: s = Schulter.

pK-WERT-BESTIMMUNG:
Elektronenspektroskopisch nach ALBERT u. SERGEANT [94] mit einer Genauigkeit von ± 0.3 Einheiten.

CHROMATOGRAPHIE:
Säulenchromatographie (SC): Kieselgel 60 (Korngröße 0.063-0.2, Fa. MERCK); Fließmittel X bzw. IX (Fließgeschwindigkeit ca. 25 Tr./Min., Fraktionsvolumen 5 ml).
Dünnschichtchromatographie (DC): DC-Fertigfolien (Polygram^{R} SIL G/UV_{254} 40 x 80 mm (Fa. MACHERY & NAGEL, Düren).

Fließmittel: (Angaben in ml/ml)

I:	Chloroform/Diisopropylether/Ethanol	= 4,5 + 4,5 + 1
II:	Chloroform/Diisopropylether/Ethanol	= 5,0 + 4,5 + 0,5
III:	Chloroform/Ethanol	= 9,0 + 1,0
IV:	Diisopropylether/Ethanol	= 8,0 + 2,0
V:	n-Hexan/Ethanol	= 7,0 + 3,0
VI:	n-Hexan/Ethanol	= 8,0 + 2,0
VII:	n-Hexan/Ethanol	= 8,5 + 1,5
VIII:	n-Hexan/Ethanol	= 9,0 + 1,0
IX:	Essigsäureethylester	= 1.0
X:	Chloroform/Essigsäureethylester	= 6,0 + 4,0

Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Analytischen Abteilung des Pharmazeutischen Instituts der Freien Universiät Berlin danke ich für die freundliche Zusammenarbeit.

2. Synthese von 6-Chlor-3-methyl-2,4(1H,3H)-pyrimidindion (57)

Die Herstellung erfolgt nach dem von NÜBEL u. PFLEIDERER [86] beschriebenen Verfahren:
0.1 M (12 g) Methylbarbitursäure werden nach Zugabe von 4 ml Wasser tropfenweise mit 96 ml $POCL_3$ versetzt und 30 Min. rückfließend erhitzt. Überschüssiges $POCl_3$ wird abgedampft und der Rückstand auf Eis gegossen. Der gelbe Niederschlag wird aus Wasser und Aktivkohle umkristallisiert.
Ausbeute: 42% d. Th.; Schmp. 276 °C (Lit.: [86] 276-277 °C).

3. Darstellung von N-Alkylanilin-Derivaten

3.1. Synthese der primären Amine (53f) und (53g), sowie deren Vorstufen (56f) und (56g)

3.1.1. 2-Methyl-5-nitrophenol (56f)

22.8 g (0.15 M) 2-Amino-4-nitrotoluol werden in 300 ml 10%iger H_2SO_4 unter Erwärmen gelöst. Man kühlt auf 0 °C ab und fügt sehr rasch unter Rühren eine Lösung von 11 g $NaNO_2$ in 30 ml Wasser hinzu, hält die Temperatur auf 0 °C und rührt 15 Minuten nach der Zugabe weiter. Die eisgekühlte Lösung wird innerhalb von 15 Minuten zu einer kochenden Lösung von 200 ml H_2SO_4 konz. in 400 ml Wasser gegeben. Dabei ist eine starke N_2-Entwicklung zu beobachten. Anschließend wird 30 Minuten rückfließend erhitzt und dann abgekühlt, wobei gelbe und braune Kristalle ausfallen, die aus Ligroin umkristallisiert werden [115].

Gelbe Kristalle, Schmp., 118 °C (Lit.[115]: 118 °C);

Ausbeute: 19.2 g = 84% der Theorie; DC (FM V): Rf = 0.62

$C_7H_7NO_3$ (153.14) ber.: C 54.90 H 4.61 N 9.14 %
gef.: C 54.55 H 4.69 N 9.00 %

Spektroskopische Daten:

MS(35): m/z (rel.Int./%) = 153 (M^+.,100), 123 (5), 107 (29),
77 (91), 63 (10), 39 (33).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 2.23 (s; 3H, 1-CH_3),
7.33 (d; 1H, J=8Hz, 3-H),
7.57 (d; 1H, J=2Hz, 6-H),
7.59 (dd; 1H, J=8/2Hz, 4-H),
10.49 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,1-OH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3440 breit (-OH), 3050w (=C-H), 2925, 2910,2850s (-CH_3), 1610s (C=C), 1460s (-CH_3), 1390s (-OH), 1300s (-NO_2).

3.1.2. 2-Methoxy-4-nitrotoluol (56g)

38.3 g (0.25 M) 56f werden in 200 ml 10%iger NaOH gelöst (rote Lösung) und tropfenweise unter Rühren 38 g Dimethylsulfat zugegeben, wobei die Temperatur unter 40 °C bleiben muß. Nach zweistündigem Rühren wird um die Reaktion zu vervollständigen und um nicht umgesetztes Dimethylsulfat zu zerstören, noch 30 Minuten zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten saugt man den ausgefallenen Niederschlag ab und kristallisiert aus Ethanol um.

Farblose Kristalle; Schmp.: 70 °C, (Lit.[116]: 71 °C).

Ausbeute: 33.4 g (80% d.Th.).

DC (FM VII): Rf = 0.76

$C_8H_9NO_3$ (167.17) ber.: C 57.48 H 5.43 N 8.38 %
gef.: C 57.37 H 5.44 N 8.30 %

Spektroskopische Daten:

MS(35): m/z (rel.Int./%) = 167 (M^+.,100), 137 (4), 121 (33), 106 (24), 105 (23), 91 (78), 78 (38), 77 (37), 65 (20), 39 (19).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ /ppm= 2.26 (s ; 3H, 1-CH_3),
3.92 (s ; 3H, 2-OCH_3),
7.40 (d ; 1H, J=8Hz, 6-H),
7.69 (d ; 1H, J=2Hz, 3-H),
7.76 (dd; 1H, J=8/2Hz, 5-H),

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3080,3030w (=C-H), 2980,2920w (-CH_3), 2850w (-OCH_3), 1620,1590s (C=C), 1520s (-NO_2), 1470w (-CH_3), 1350s (-NO_2).

3.1.3. 5-Amino-2-methylphenol (53f)

15.3 g (0.1 M) 56f werden in 200 ml Ethanol gelöst, 1 g Pd/C hinzugefügt und zwei Stunden in der Parr-Apparatur bei 2 atü hydriert. Nach beendeter Hydrierung wird Pd/C abfiltriert und die ethanolische Lösung eingedampft. Der Rückstand wird aus Ethanol umkristallisiert.

Farblose Kristalle; Schmp.: 152 °C;

Ausbeute: 11.7 g (95% d.Th.).

DC (FM V): Rf = 0.42

C_7H_9NO (123.16) ber.: C 68.27 H 7.36 N 11.37 %
gef.: C 68.03 H 7.41 N 11.30 %

Spektroskopische Daten:

MS(35): m/z (rel.Int./%) = 123 (M^+.,100), 122 (85), 106 (9), 95 (51), 77 (13), 66 (19), 45 (27).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ /ppm= 1.92 (s ; 3H, 2-CH_3),
4.69 (s , breit; 2H,mit D_2O aust.,5-NH_2),
5.91 (dd; 1H, J=8/2Hz, 4-H),
6.05 (d ; 1H, J=2Hz, 6-H),
6.64 (d ; 1H, J=8Hz, 3-H),
8.62 (s ; 1H, mit D_2O aust.,1-OH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3430 breit (-OH), 3384,3321s (-NH_2), 3022m (=C-H), 2902m (-CH_3), 1615s (-NH_2),1595s (C=C), 1463s (-CH_3).

3.1.4. 3-Methoxy-4-methylanilin (53g)

16.7 g (0.1 M) 56g werden in 200 ml Ethanol gelöst, 1 g Pd/C hinzugefügt und 2 h in der Parr-Apparatur bei 2 Torr hydriert. Nach beendeter Hydrierung wird Pd/C abfiltriert und die ethanolische Lösung eingedampft. Es bleibt ein öliger Rückstand, aus dem man durch Umkristallisieren mit Ethanol rötliche Nadeln erhält.

Rosa Nadeln; Schmp.: 51 °C, (Lit.[116]: 55 °C).

Ausbeute: 13.0 g (95% d.Th.).

DC (FM VII): Rf = 0.34

$C_8H_{11}NO$ (137.18) ber.: C 70.04 H 8.08 N 10.21 %
gef.: C 69.96 H 8.15 N 10.19 %

Spektroskopische Daten:

MS(35): m/z (rel.Int./%) = 137 (M^+.,100), 122 (19), 106 (49), 94 (22), 77 (22), 65 (8), 39 (12).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ /ppm= 1.97 (s ; 3H, 4-CH_3),
3.68 (s; 3H, 3-OCH_3),
4.76 (s, breit; 2H,mit D_2O aust.,1-NH_2),
6.05 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
6.19 (d; 1H, J=2Hz, 2-H),
6.73 (d; 1H, J=8Hz, 5-H).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ /cm^{-1} = 3400s,3310,3210m (-NH_2), 3000w (=C-H); 2960,2940,2920m (-CH_3), 2840m (-OCH_3), 1620,1590,1515s (C=C), 1470s (-CH_3).

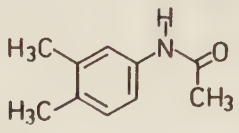
3.2. Acetylierung der 3,4-disubstituierten Aniline

Allgemeine Vorschrift:

0.1 M Amin 53 werden in 250 ml Wasser suspendiert. Nach tropfenweiser Zugabe von 0.3 M (30ml) Acetanhydrid erwärmt sich das Reaktionsgemisch und es tritt Farbveränderung auf. Man läßt über Nacht rühren, saugt den enstandenen feinen Niederschlag ab und kristallisiert aus Ethanol/Wasser (7:3) um, wobei man farblose Nadeln erhält.

Ausbeute : über 90%

3.2.1. N-(3,4-Dimethylphenyl)-acetamid 54a



Farblose Nadeln.

Schmp.: 86 °C.

Ausb.: 15.7 g (96 % d.Th.).

DC (FM VIII): Rf = 0.30.

$C_{10}H_{13}NO$ (163.22) ber.: C 73.59 H 8.03 N 8.58 %
gef.: C 73.39 H 8.04 N 8.59 %

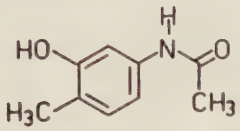
Spektroskopische Daten:

MS(80): m/z (rel.Int./%) = 163 (M^+.,100), 121 (95), 120 (53), 106 (52).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ /ppm= 2.00 (s ; 3H, 1-NHCOCH_3),
2.21 (s ; 6H, 3- u. 4-CH_3),
6.87 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H),
7.29 (dd; 1H, J=2/8Hz, 6-H),
7.34 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ /cm^{-1} = 3300,3260,3200,3140m (-NH), 3080w (=C-H), 2970,2925,2860m (-CH_3), 1660s (C=O), 1610s (C=C), 1540s (-NH), 1505s (C=C).

3.2.2 N-(3-Hydroxy-4-methylphenyl)-acetamid (54f)



Rosa Kristalle.

Schmp.: 225 °C.

Ausb.: 14.8 g (90 % d.Th.).

DC (FM VI): Rf = 0.30

$C_9H_{11}NO_2$ (165.19) ber.: C 65.44 H 6.71 N 8.48 %
gef.: C 65.42 H 6.78 N 8.41 %

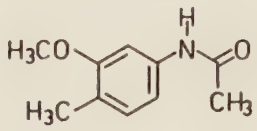
Spektroskopische Daten:

MS(140): m/z (rel.Int./%) = 165 (M^+.,67), 123 (100), 122 (99), 106 (12), 94 (28), 77 (29), 66 (13), 65 (13), 52 (19), 43 (77), 39 (22).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ /ppm= 2.04 (s ; 3H, 1-NHCOCH_3),
2.09 (s ; 3H, 4-CH_3),
6.81 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
6.98 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H),
7.26 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H),
9.19 (s ; 1H, mit D_2O aust.,3-OH),
9.67 (s ; breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ /cm^{-1} = 3300,3270m (-NH), 3200 breit (-OH), 3120m (-NH), 2980,2930,2900m (-CH_3), 1660s (C=O), 1620s (C=C), 1560s (-NH), 1455m (-CH_3), 1420s (-OH).

3.2.3. N-(3-Methoxy-4-methylphenyl)-acetamid (54g)



Farblose Kristalle.

Schmp.: 134 °C.

Ausb.: 13.4 g (75 % d.Th.).

DC (FM VI): Rf = 0.45

$C_{10}H_{13}NO_2$ (179.22) ber.: C 67.02 H 7.31 N 7.82 %
gef.: C 66.96 H 7.49 N 7.84 %

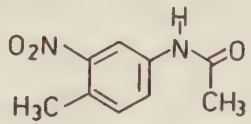
Spektroskopische Daten:

MS(35): m/z (rel.Int./%) = 179 (M^+.,80), 137 (100), 122 (18), 106 (11), 91 (3), 77 (19), 65 (11), 39 (12).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ /ppm= 2.01 (s; 3H, 1-NHCOCH_3), 2.08 (s; 3H, 4-CH_3), 3.73 (s; 3H, 3-OCH_3), 6.99-7.25 (m; 3H, 2-, 5- u. 6-H), 9.89 (s, breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ /cm^{-1} = 3289,3252,3197,3137,3120 (-NH), 3004, 2960,2935,2919 (=C-H), 1659s (C=O), 1613s (C=C), 1549s (-NH), 1511s (C=C).

3.2.4. N-(4-Methyl-3-nitrophenyl)-acetamid (54i)



Hellgelbe Kristalle.

Schmp.: 135 °C.

Ausb.: 18.6 g (96% d.Th.).

DC (FM V): Rf = 0.61

$C_9H_{10}N_2O_3$ (194.20) ber.: C 55.66 H 5.20 N 14.42 %
gef.: C 55.59 H 5.21 N 14.38 %

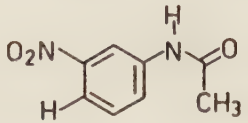
Spektroskopische Daten:

MS(60): m/z (rel.Int./%) = 194 (M^+.,31), 177 (3), 152 (48),
135 (47), 107 (80), 105 (41), 91 (7),
77 (46), 65 (11), 43 (100), 39 (15).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 2.07 (s ; 3H, 1-NHCOCH_3),
2.46 (s ; 3H, 4-CH_3),
7.38 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H),
7.71 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
8.34 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H).
10.25 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3310,3270m (-NH), 3190,3130w (-NH),
3050w (=C-H), 2930,2970,2990w (-CH_3), 1675s (C=O), 1600s (C=C),
1530-1540 breit (-NH u. -NO_2), 1370s (-CH_3), 1325s (-NO_2).

3.2.5. N-(3-Nitrophenyl)-acetamid (54j)



Schwach gelbe Kristalle.

Schmp.: 155 °C.

Ausbeute: 17.5 g (97% (d.Th.).

DC (FM VIII): Rf = 0.78

$C_8H_8N_2O_3$ (180.16) ber.: C 53.33 H 4.48 N 15.55 %
gef.: C 53.42 H 4.46 N 15.64 %

Spektroskopische Daten:

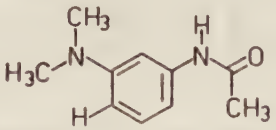
MS (100): m/z (rel.Int./%) = 180 (M^+.,18), 138 (87), 92 (38), 65 (26), 43 (100).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 2.11 (2 ; 3H, 1-NHCO-CH_3),
7.56 (t ; 1H, J=8Hz, 5-H),
7.90 (dt; 2H, J=8/2Hz, 4- u. 6-H),
8.61 (t ; 1H, J=2Hz, 2-H),
10.39 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3300,3260m (-NH), 3180,3120w (-NH), 3090 (=C-H), 1670s (C=O), 1600s (C=C), 1550s (-NO_2), 1530s (-NH), 1320s (-NO_2).

3.3. Synthese von 54b und 54c

3.3.1. N-(3-Aminophenyl)-acetamid (54b)



18.0 g (0.1 M) 54j werden in 250 ml Eisessig warm gelöst und nach dem Erkalten unter Zusatz von 1 g Pd/C 2h in der Parr-Apparatur bei 2 atü hydriert. Die Lösung wird filtriert, neutralisiert und eingeengt. Der Rückstand wird warm in 300 ml Ethanol gelöst, dazu gibt man 34 g (0.4 M) $NaHCO_3$, gelöst in 300 ml Wasser und fügt 50 g (0.4 M) Methyljodid hinzu. Man läßt über Nacht rühren, dampft überschüssiges Methyljodid und das Lösungsmittel ab, wobei das Produkt in der wässrigen Lösung ausfällt. Es wird aus Wasser/Ethanol (1:1) umkristallisiert.

Beige Plättchen; Schmp.: 78 °C; Ausb.: 14.8 g (83 % d.Th.).
DC (FM IV): Rf = 0.55

$C_{10}H_{14}N_2O$ (178.24) ber.: C 67.39 H 7.92 N 15.72 %
gef.: C 67.21 H 7.88 N 15.46 %

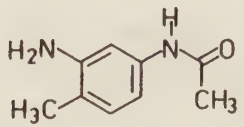
Spektroskopische Daten:

MS(120): m/z (rel.Int./%) = 178 (M^+.,100), 136 (70), 135 (72), 121 (24), 107 (23), 93 (27), 43 (65).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 2.01 (s; 3H, 1-$NHCOCH_3$),
2.86 (s; 6H, 3-$N(CH_3)_2$),
6.40u.6.87 (dt/dt;2H,J=8/2Hz,4- u.6-H),
6.97 (t; 1H, J=2Hz, 2-H),
7.09 (t; 1H, J=8Hz, 5-H),
9.75 (s, breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3426,3301s (-NH), 3142m (=C-H), 2981m ($-CH_3$), 2893, 2807m ($-NCH_3$), 1658s (C=O), 1583s C=C), 1555s (-NH), 1499s (C=C), 1424, 1412, 1370s ($-CH_3$).

3.3.2 N-(3-Amino-4-methylphenyl)-acetamid (54d)



19.4 g (0.1M) 54i werden wie unter 54b beschrieben hydriert. Nach dem Einengen wird der Niederschlag abgesaugt und aus Ethanol umkristallisiert.

Graue Kristalle.

Schmp.: 145 °C.

Ausb.: 13.1 g (80 % d.Th.).

DC (FM IV): Rf = 0.50

$C_9H_{12}N_2O$ (164.21) ber.: C 65.83 H 7.37 N 17.06 %
gef.: C 65.57 H 7.39 N 17.04 %

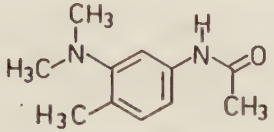
Spektroskopische Daten:

MS (100): m/z (rel.Int./%) = 164 (M^+.,70), 122 (100), 121 (85), 105 (16), 93 (22), 77 (16), 43 (39).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.97 (s ; 6H, 1-NHCO-CH_3),
4.80 (s ; breit; 2H mit D_2O aust.,3-NH_2),
6.64 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
6.78 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H),
6.94 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H),
9.55 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3410,3320s (-NH_2), 3240,3140m (-NH), 3020w (=C-H), 2970,2920,2860m (-CH_3), 1665s (C=O), 1620s (-NH_2), 1605s (C=C), 1550s (-NH), 1520s (C=C).

3.3.3. N-(3-Dimethylamino-4-methylphenyl)-acetamid (54c)



16.4 g (0.1 M) 54d werden wie unter 54b beschrieben alkyliert und aufgearbeitet.

Farblose Plättchen; Schmp.: 90 °C.

Ausbeute: 14.4 g (75% d.Th.).

DC (FM IV): Rf = 0.77

$C_{11}H_{16}N_2O$ (192.26) ber.: C 68.72 H 8.39 N 14.57 %
gef.: C 68.42 H 8.34 N 14.28 %

Spektroskopisch Daten:

MS (60): m/z (rel.Int./%) = 192 (M^+.,83), 177 (45), 149 (18), 135 (100), 122 (18), 119 (18), 106 (19), 77 (21), 69 (22), 43 (57).

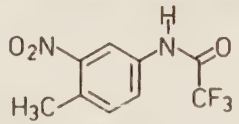
^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 2.01 (s ; 3H, 1-NHCO-CH_3),
2.18 (s ; 3H, 4-CH_3),
2.59 (s ; 6H, 3-N(CH_3)$_2$),
7.02 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H),
7.14 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
7.27 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H),
9.79 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3290,3250s (-NH), 3190,3130m (-NH), 3080w (=C-H), 2980,2945,2870 m (-CH_3), 2830,2795m (N-CH_3), 1665s (C=O), 1615s (C=C), 1565s (-NH).

3.4. Trifluoracetylierung der 3,4-disubstituierten Aniline

Allgemeine Vorschrift:
Zu einer Lösung von 0.2 M Anilin in 200 ml Diethylether werden unter Eiskühlung tropfenweise 0.3 M (63 g) Trifluoracetanhydrid zugegeben. Nach zweistündigem Rühren dampft man das Lösungsmittel ab und erhält nach Zusetzen von Eis aus dem öligen Rückstand einen farblosen Niederschlag, der abgesaugt und aus Ethanol umkristallisiert wird.

3.4.1. N-(4-Methyl-3-nitrophenyl)-trifluoracetamid (69i)



Gelbe Kristalle; Schmp.: 125 °C, Ausb.: 42.2 g (85% d.Th.);

DC (FM VI): Rf = 0.50

$C_9H_7F_3N_2O_3$ (248.17) ber.: C 43.56 H 2.84 N 11.29 %
gef.: C 43.54 H 2.81 N 11.25 %

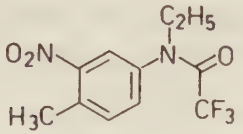
Spektroskopische Daten:

MS (60): m/z (rel.Int./%) = 248 (M^+.,60), 231 (100), 203 (33), 201 (14), 179 (12), 176 (21), 161 (16), 132 (43), 108 (79), 104 (62), 77 (85).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 2.52 (s ; 3H, 4-CH_3), 7.52 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H), 7.91 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H), 8.38 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H), 11.68 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3350 (-NH), 3140w (-NH), 1725s (C=O), 1600m (C=C), 1545s (-NO_2), 1530m (-NH), 1460m (-CH_3), 1340m (-NO_2).

3.4.2. N-Ethyl-N-(4-methyl-3-nitrophenyl)-trifluoracetamid (70i)



Es werden 36.0 g (0.2 M) 55i in 200 ml Diethylether gelöst und nach der allgemeinen Vorschrift umgesetzt.

Beige Kristalle; Schmp.: 125 °C;

Ausbeute: 50.8 g = 92% der Theorie.

DC (FM VI): Rf = 0.54

$C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$ (276.22) ber.: C 47.83 H 4.01 N 10.14 %
gef.: C 47.86 H 3.99 N 10.20 %

Spektroskopische Daten:

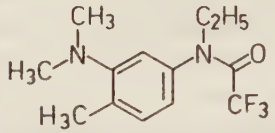
MS (35): m/z (rel.Int./%) = 276 (M^+.,65), 259 (54), 231 (14), 179 (25), 132 (36), 124 (100), 108 (19), 104 (27), 91 (29), 77 (52), 69 (55)

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.08 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.55 (s ; 3H, $4-CH_3$),
3.75 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
7.64 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H),
7.73 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
8.14 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3090 (=C-H), 3010,2980,2950w ($-CH_3$), 1690s (C=O), 1570w (C=C), 1535s ($-NO_2$), 1450,1390m ($-CH_3$), 1355s ($-NO_2$).

3.5. Synthese von 70c, 70d und 70e

3.5.1. N-Ethyl-N-(3-dimethylamino-4-methylphenyl)-trifluoracetamid (70c)



24.6 g (0.1 M) 70d werden wie unter 54b beschrieben alkyliert und aus Petrolether umkristallisiert.

Farblose Kristalle; Schmp.: 37 °C, Ausb.: 20.9 g (76 % d.Th.);

DC (FM V): Rf = 0.81

$C_{13}H_{17}F_3N_2O$ (274.29) ber.: C 56.93 H 6.25 N 10.21 %
gef.: C 56.91 H 6.10 N 10.18 %

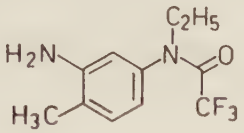
Spektroskopische Daten:

MS (35): m/z (rel.Int./%) = 274 (M^+.,100), 259 (59), 245 (11), 177 (15), 161 (22), 136 (15), 124 (35), 91 (12), 77 (15), 69 (19), 44 (15).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.09 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.31 (s ; 3H, 4-CH_3),
2.70 (s ; 6H, $N(CH_3)_2$),
3.71 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
7.02 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
7.16 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H),
7.27 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3028 (=C-H), 2976,2940,2872s ($-CH_3$), 2831,2788s ($N-CH_3$), 1601s (C=O), 1580s, 1502s (C=C), 1477,1451m ($-CH_3$).

3.5.2. N-Ethyl-N-(3-Amino-4-methylphenyl)-trifluoracetamid (70d)



27.6 g (0.1 M) 70i werden wie unter 54b beschrieben hydriert und mit heißem Petrolether im Eisbad kristallisiert.

Schwach gelbe Kristalle, Schmp.: 39 °C;

Ausbeute: 22.0 g (90% d.Th.).

DC (FM VII): Rf = 0.26

$C_{11}H_{13}F_3N_2O$ (246.24) ber.: C 53.66 H 5.32 N 11.38 %
gef.: C 53.78 H 5.26 N 11.32 %

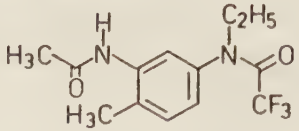
Spektroskopische Daten:

MS (35): m/z (rel.Int./%) = 246 (M^+.,70), 218 (17), 149 (100), 134 (45), 124 (37), 106 (48), 77 (41), 69 (48), 39 (21).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.08 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.07 (s ; 3H, 4-CH_3),
3.65 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
5.13 (s , breit; 2H, mit D_2O aust.,3-NH_2),
6.39 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
6.51 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H),
6.98 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H).

IR ($CHCl_3$): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3490,3410w ($-NH_2$), 3015w (=C-H), 2980,2940m ($-CH_3$), 2870w ($-NCH_3$), 1690s (C=O), 1625m ($-NH_2$), 1500m (C=C), 1450,1460m ($-CH_3$).

3.5.3. N-Ethyl-N-(3-acetamido-4-methylphenyl)-trifluor-acetamid (70e)



Zu einer Lösung von 24.6 g (0.1 M) 70d in 200 ml Diethylether werden 30 g (0.3 M) Acetanhydrid zugetropft. Es wird 12 Stunden gerührt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels bewirkt man durch Zugabe von Eis die Bildung eines weißen Niederschlags, der abgesaugt und aus Ethanol umkristallisiert wird.

Farblose Kristalle; Schmp.: 78 °C, Ausb.: 22.4 g (78 % d.Th.).

DC (FM V): Rf = 0.54

$C_{13}H_{15}F_3N_2O_2$ (288.27) ber.: C 54.17 H 5.25 N 9.72 %
gef.: C 54.13 H 5.26 N 9.77 %

Spektroskopische Daten:

MS (120): m/z (rel.Int./%) = 288 (M^+.,55), 246 (81), 217 (14), 149 (53), 134 (20), 124 (28), 106 (16), 77 (18), 44 (100).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.09 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.08 (s ; 3H, $3-NHCOCH_3$),
2.25 (s ; 3H, $4-CH_3$),
3.70 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
7.08 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
7.31 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H),
7.54 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H),
9.31 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,-N-H).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3290s (-NH), 3000,2980,2940w ($-CH_3$), 2870w ($-NCH_3$), 1695s (C=O), 1665s (C=O), 1620,1590m (C=C), 1540s (-NH), 1495s (C=C), 1455m,1425s ($-CH_3$).

3.6 3,4-disubstituierte N-Alkylaniline (55)

Allgemeine Darstellungsmethoden:

Syntheseweg A [117]:
In einem Dreihalskolben mit Rührer, Intensivkühler und Tropftrichter werden 22.8 g (200%iger Überschuß) $LiAlH_4$ in trockenem, peroxidfreiem Diethylether suspendiert und 0.2 M acetyliertes Anilin als Suspension in Diethylether vorsichtig unter ständigem Rühren so zugegeben, daß die Reaktionslösung schwach siedet.

Nach beendeter Zugabe wird 2.5 Stunden zum Sieden rückfliessend erhitzt und nach dem Abkühlen überschüssiges $LiAlH_4$ vorsichtig im Eisbad mit Wasser umgesetzt.

Man alkalisiert die wässrige Lösung mit 15%iger Natronlauge, schüttelt das entstandene Amin dreimal mit je 100 ml Diethylether aus, dampft das Lösungsmittel ab und entfernt nach dem Ansäuern des öligen Rückstandes mit 10%iger Salzsäure restliche Verunreinigungen durch Extraktion mit Diethylether.

Die wässrige Phase wird erneut alkalisiert und das sekundäre Amin wieder dreimal mit je 100 ml Diethylether ausgeschüttelt. Die vereinigten etherischen Phasen werden getrocknet, eingeengt und das gewonnene Öl im Ölpumpen-Vakuum destilliert.

Syntheseweg B [82]:
0.1 M Anilin, 0.15 M (22.2 g) o-Ameisensäuretriethylester und 0.4 g H_2SO_4 konz. werden in einem Dreihalskolben mit Innenthermometer, Vigreux-Kolonne und Destillationsaufsatz unter Rühren erhitzt.

Bei 105 °C Badtemperatur destilliert entstehender Ethanol über und man erhöht innerhalb von einer Stunde die Badtemperatur auf 175 °C.

Diese Temperatur wird weitere 30 Minuten gehalten, dann läßt man abkühlen und destilliert im Wasserstrahlvakuum überschüssigen o-Ameisensäuretriethylester ab. Den öligen Rückstand versetzt man mit 50 ml 10%iger Salzsäure und erhitzt unter intensivem Rühren rückfließend eine Stunde.

Nach dem Abkühlen im Eisbad neutralisiert man, wobei das Amin sich als farbloses Öl abscheidet.

Es wird dreimal mit je 100 ml Diethylether ausgeschüttelt, mit Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen.

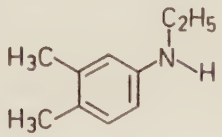
Nach Destillation im Ölpumpenvakuum erhält man das sekundäre Amin als reines Öl.

Syntheseweg C [84]:
50 mmol trifluoracetyliertes Anilin werden in 100 ml wasserfreiem Aceton gelöst und nach Zugabe von 0.2 M (31.2 g) Ethyljodid 10 Minuten unter Rückfluß erhitzt.

Nach dem Abkühlen werden 0.2 M (11.2 g) gepulvertes Kaliumhydroxid hinzugefügt und 6 Stunden rückfließend erhitzt, wobei sich das Reaktionsprodukt als Öl abscheidet, welches mit je dreimal 100 ml Essigsäureethylester ausgeschüttelt wird.

Die organischen Phasen werden mit Na_2SO_4 getrocknet, eingeengt, das verbleibende Öl mit Petrolether heiß extrahiert und unter Eiskühlung solange gerührt bis orange-rote Kristalle ausfallen.

3.6.1. N-Ethyl-3,4-dimethylanilin (55a)



Die Herstellung kann über den Syntheseweg A oder B erfolgen.

Farbloses Öl, $Sp._{17}$: 122 °C.

Ausbeute: A = 20.8 g (70% d.Th.), B = 11.2 g (75 % d.Th.).

DC (FM VIII): Rf = 0.77

$C_{10}H_{15}N$ (149.24) ber.: C 80.48 H 10.13 N 9.38 %
gef.: C 79.70 H 10.29 N 9.40 %

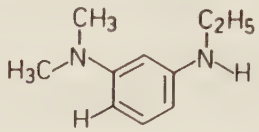
Spektroskopische Daten:

MS (35): m/z (rel.Int./%) = 149 (M^+.,22), 134 (100), 106 (10).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.14 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH}_3$),
2.06 u. 2.11 (s ; 6H, 3- u. 4-CH_3),
2.98 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH}_2-CH_3$),
5.00 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,-NH),
6.27 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
6.36 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H),
6.82 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H).

IR ($CHCl_3$): $\tilde{\nu}/cm^{-1}$ = 3420m (-NH), 3000s (=C-H), 2970s,2930m, 2880m ($-CH_3$), 1620m (C=C), 1580w (-NH), 1510 (C=C), 1450m ($-CH_3$), 1320m (-NH).

3.6.2. 3-Dimethylamino-N-ethylanilin (55b)



Die Herstellung erfolgt über den Syntheseweg A.

Farbloses Öl, $Sp._{1.5}$: 98 °C, Ausb.: 30.8 g (94 % d.Th.).

DC (FM II): Rf = 0.79

$C_{10}H_{16}N_2$ (164.25) ber.: C 73.13 H 9.82 N 17.05 %
gef.: C 73.10 H 10.02 N 17.31 %

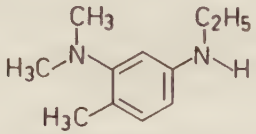
Spektroskopische Daten:

MS (35): m/z (rel.Int./%) = 164 (M^+.,88), 149 (98), 120 (22), 109 (100), 74 (38), 43 (34), 39 (12).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ/ppm= 1.21 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.88 (s; 6H, $3-N(CH_3)_2$),
3.14 (q; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
4.57 (s,breit; 1H, mit D_2O aust.,-NH),
6.00 (dt/dt; 2H, J=8/2Hz, 4- u. -6-H),
6.19 (t; 1H, J=2Hz, 2-H),
7.04 (t; 1H, J=8Hz, 5-H).

IR ($CHCl_3$): $\tilde{\nu}/cm^{-1}$ = 3410w (-NH), 2960m ($-CH_3$), 2860 ($-NCH_3$), 1605s (C=C), 1580m (-NH), 1510m (C=C), 1480w,1445m ($-CH_3$).

3.6.3. 3-Dimethylamino-N-ethyl-4-methylanilin (55c)



Die Herstellung erfolgt über den Syntheseweg A.

Farbloses Öl, $Sp._{1.75}$: 114 °C.

Ausbeute: 25.7 g (72% d.Th.).

DC (FM IV): Rf = 0.74

$C_{11}H_{18}N_2$ (178.28) ber.: C 74.11 H 10.18 N 15.71 %
gef.: C 74.08 H 10.64 N 15.83 %

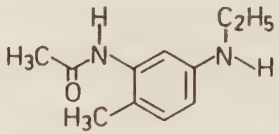
Spektroskopische Daten:

MS (35): m/z (rel.Int./%) = 178 (M^+.,53), 163 (100), 147 (17), 134 (14), 118 (15), 106 (8), 77 (15).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.13 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.09 (s ; 3H, $4-CH_3$),
2.56 (s ; 6H, $3-N(CH_3)_2$),
2.97 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
5.16 (s , breit;1H, mit D_2O aust.,-NH),
6.16 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
6.26 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H),
6.81 (t ; 1H, J=8Hz, 5-H).

IR ($CHCl_3$): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3420w (-NH), 3000,2980,2940s,2870m ($-CH_3$), 2830,2795m ($-NCH_3$), 1610s (C=C), 1580m (-NH), 1510s (C=C), 1480, 1450m ($-CH_3$).

3.6.4. 3-Acetamido-N-ethyl-4-methylanilin (55e)



19.2 g (0.1M) 70e werden in 200 ml Ethanol warm gelöst und 500 ml einer 5%igen Natronlauge zugetropft. Man läßt eine Stunde rühren und dampft dann das Lösungsmittel ab, wobei es zur Ausfällung farbloser Kristalle kommt. Diese werden abgesaugt und getrocknet. Die vollständige Isolierung von 55e erfolgt durch Ausschütteln der alkalischen Phase mit Essigsäureethylester, Abdampfen des Lösungsmittels und Umkristallisieren aus Ethanol/Wasser (7:3).

Farblose Kristalle, Schmp.: 104 °C, Ausb.: 16.5 g (86% d.Th.).
DC (FM V): Rf = 0.48

$C_{11}H_{16}N_2O$ (192.26) ber.: C 68.72 H 8.39 N 14.57 %
gef.: C 68.63 H 8.48 N 14.61 %

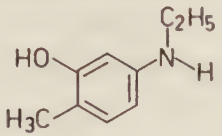
Spektroskopische Daten:

MS (35): m/z (rel.Int./%) = 192 (M^+.,67), 177 (100), 161 (4), 149 (25), 135 (73), 121 (6), 107 (18), 106 (13), 43 (40).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.13 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.01 (s ; 3H, 3-$NHCOCH_3$),
2.02 (s ; 3H, 4-CH_3),
2.98 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
5.25 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,-NH),
6.29 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
6.66 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H),
6.87 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H),
8.99 (s ; 1H, mit D_2O aust.,3-NH).

IR ($CHCl_3$): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3350,3260s (-NH), 3020w (=C-H), 2960, 2920w,2860w ($-CH_3$), 1675s (C=O), 1645s (C=C), 1625s (-NH), 1580m (C=C), 1545s (-NH), 1490 (C=C).

3.6.5. 5-Ethylamino-2-methylphenol (55f)



Die Herstellung erfolgt über den Syntheseweg A. Abweichend von der allgemeinen Vorschrift wird in diesem Falle als Lösungsmittel Tetrahydrofuran (peroxid- und wasserfrei) verwendet und nach Umsetzung des überschüssigen $LiAlH_4$ mit Eiswasser im Eisbad, das Rohprodukt mit Essigsäureethylester ausgeschüttelt. Die organischen Phasen werden mit Na_2SO_4 getrocknet, eingeengt, der Rückstand in Diethylether gelöst, wobei eventuell noch vorhandenes 54f ungelöst bleibt. Die Etherphasen engt man ein und kristallisiert das Rohprodukt aus Cyclohexan um.

Rosa Nadeln; Schmp.: 114 °C (Lit.[8]: 114 °C);
Ausbeute: 23.9 g (79% d.Th.), DC (FM I): Rf = 0.69.

$C_9H_{13}NO$ (151.21) ber.: C 71.49 H 8.67 N 9.26 %
gef.: C 71.25 H 8.72 N 9.29 %

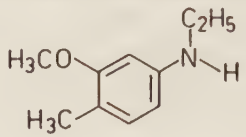
Spektroskopische Daten:

MS (60): m/z (rel.Int./%) = 151 (M^+.,69), 136 (100), 108 (11).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.16 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
1.99 (s ; 3H, 4-CH_3),
3.00 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
5.10 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,-NH),
5.95 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
6.07 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H),
6.74 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H),
8.70 (s ; 1H, mit D_2O aust.,3-OH).

IR ($CHCl_3$): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3280s (-NH), 3280 breit (-OH), 2990, 2970,2920m ($-CH_3$), 3860m ($-NCH_3$), 1620s (-NH), 1600,1520s (C=C), 1420s (-OH).

3.6.6. N-Ethyl-3-methoxy-4-methylanilin (55g)



Die Herstellung kann über den Syntheseweg A oder B erfolgen. Abweichend von der allgemeinen Vorschrift wird in diesem Falle als Lösungsmittel Tetrahydrofuran (peroxid- und wasserfrei) verwendet. Das N-Alkylanilin wird mit Diethylether ausgeschüttelt (s.Syntheseweg A).

Farbloses Öl; $Sp._{1.5}$: 113 °C;

Ausbeute: A = 28.1 g (85%), B = 14.8g (90% d.Th.);

DC (FM VII): Rf = 0.51

$C_{10}H_{15}NO$ (165.24) ber.: C 72.69 H 9.15 N 8.48 %
gef.: C 72.33 H 9.09 N 8.53 %

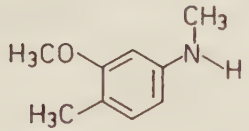
Spektroskopische Daten:

MS (60): m/z (rel.Int./%) = 165 (M^+.,66), 150 (100), 137 (15), 135 (14), 122 (23), 106 (24), 91 (17), 77 (28).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.14 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH}_3$),
1.98 (s ; 3H, $4-CH_3$),
3.02 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH}_2-CH_3$),
3.71 (s ; 3H, $3-OCH_3$),
5.33 (s , breit; 1H, mit D_2O aust., -NH),
6.03 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
6.18 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H),
6.18 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H).

IR ($CHCl_3$): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3420m (-NH), 3010w (=C-H), 3000, 2960, 2930m ($-CH_3$), 2850w ($-OCH_3$), 1615s,1510 (C=C), 1590m (-NH).

3.6.7. 3-Methoxy-N,4-dimethylanilin (55h)



Die Herstellung erfolgt über den Syntheseweg B. Abweichend von der allgemeinen Vorschrift werden 15.9 g o-Ameisensäuretrimethylester an Stelle des Triethylesters eingesetzt. Dabei wird der entstehende Methylalkohol abdestilliert.

Farbloses Öl; $Sp._2$: 91 °C.

Ausbeute: 12.9 g (85% d.Th.).

DC (FM VII): Rf = 0.39

$C_9H_{13}NO$ (151.21) ber.: C 71.49 H 8.67 N 9.26 %
gef.: C 71.21 H 8.66 N 9.08 %

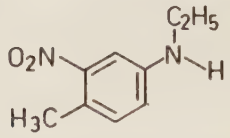
Spektroskopische Daten:

MS (60): m/z (rel.Int./%) = 151 (M^+.,100), 137 (18), 135 (15), 122 (25), 106 (30), 77 (25), 65 (12).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ /ppm= 2.10 (s ; 3H, 4-CH_3),
2.80 (s ; 3H, N-CH_3),
3.42 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,-NH),
3.79 (s ; 3H, 3-OCH_3),
3.05 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
6.19 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H),
6.86 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H).

IR ($CHCl_3$): $\tilde{\nu}$ /cm^{-1} = 3430m (-NH), 3010w (=C-H), 3000,2960, 2930m (-CH_3), 2855w (-OCH_3), 1605s (C=C), 1585s,1500 (C=C).

3.6.8. N-Ethyl-4-methyl-3-nitroanilin (55i)



Die Herstellung erfolgt über den Syntheseweg C.

Orange-rote Kristalle; Schmp.: 36 °C.

Ausbeute: 7.3 g (81% d.Th.).

DC (FM VI): Rf = 0.53

$C_9H_{12}N_2O_2$ (180.21) ber.: C 59.99 H 6.71 N 15.55 %
gef.: C 59.52 H 6.68 N 15.53 %

Spektroskopische Daten:

MS (35): m/z (rel.Int./%) = 180 (M^+.,74), 165 (100),
163 (26), 135 (47), 119 (58),
106 (23), 91 (24), 77 (41).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.16 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.33 (s ; 3H, 4-CH_3),
3.05 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
6.05 (s , breit;1H, mit D_2O aust.,-NH),
6.82 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6-H),
7.08 (d ; 1H, J=2Hz, 2-H),
7.16 (d ; 1H, J=8Hz, 5-H).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3410,3380 (-NH), 2965,2925,2850w ($-CH_3$),
1625m (C=C), 1530s ($-NO_2$), 1330m ($-NO_2$).

4. Synthese von 3',4'-disubstituierten 6-Anilinouracilen (58)

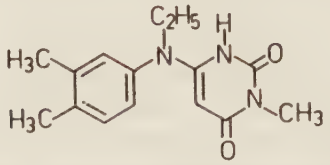
Allgemeine Vorschrift in Anlehnung an YONEDA [85]:
30 mmol N-Alkylanilin (55) und 10 mmol 6-Chlor-3-methyl-2,4(1H,3H)-pyrimidindion (57) werden bei 145 °C dreißig Minuten in einem geschlossenen 100 ml Jodzahlkolben im Ölbad zusammengeschmolzen.

Die festen N-Alkylaniline werden vorher mit 57 verrieben. Nach dem Abkühlen der Schmelze fügt man 50 ml 1 N Natronlauge und 50 ml Diethylether hinzu und läßt weitere zwei Stunden rühren.

Überschüssiges N-Alkylanilin (55) wird durch dreimaliges Ausschütteln mit je 100 ml Diethylether, Trocknen der organischen Phasen mit Na_2SO_4, und Abziehen des Lösungsmittels zurückgewonnen.

Die festen N-Alkylaniline werden in den entsprechenden Lösungsmitteln umkristallisiert, die flüssigen durch Destillation im Ölpumpenvakuum rein erhalten.
Die wässrige Phase wird mit 3 N Salzsäure auf pH 5,5 (58b, 58c und 58e) bzw. pH 6,5 (58a, 58g, 58h und 58i) eingestellt, wobei das Produkt kristallin ausfällt.
Der Niederschlag wird nach zwölfstündigem Stehen bei 4 °C gesammelt und aus dem entsprechenden Lösungsmittel umkristallisiert.

4.1. 6-[Ethyl-(3,4-dimethylphenyl)amino]-3-methyl-2,4(1H,3H)-pyrimidindion (58a)



Das Produkt wird aus Ethanol/Wasser (8:2) umkristallisiert.

Farblose Plättchen; Schmp.: 140 °C.

Ausbeute: 2.00 g (73% d.Th.).

DC (FM I): Rf = 0.61

$C_{15}H_{19}N_3O_2$ (273.34) ber.: C 65.91 H 7.01 N 15.37
gef.: C 65.62 H 7.00 N 15.45

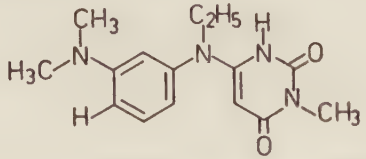
Spektroskopische Daten:

MS (140): m/z (rel.Int./%) = 273 (M^+.,100), 258 (51), 245 (98), 215 (27), 187 (28), 146 (99), 134 (71), 105 (64), 91 (46), 77 (61), 68 (97), 56 (45).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.06 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.24 (s ; 6H, 3'- u. 4'-CH_3),
3.04 (s ; 3H, 3-CH_3),
3.67 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
4.31 (s ; 1H, 5-H),
6.93 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6'-H),
7.00 (d ; 1H, J=2Hz, 2'-H),
7.22 (d ; 1H, J=8Hz, 5'-H),
10.22 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3423s (-NH), 2970m ($-CH_3$), 1696s (4C=O), 1632s (2C=O), 1602s (C=C), 1499s (C=C).

4.2. 6-[(3-Dimethylaminophenyl)ethylamino]-3-methyl-2,4(1H,3H)-pyrimidindion (58b)



Das Produkt wird aus Essigsäureethylester umkristallisiert.

Farblose Plättchen; Schmp.: 173 °C;

Ausbeute: 2.1 g (72% d.Th.).

DC (FM II): Rf = 0.56

$C_{15}H_{20}N_4O_2$ (288.35) ber.: C 62.48 H 6.99 N 19.43 %
gef.: C 62.30 H 7.03 N 19.36 %

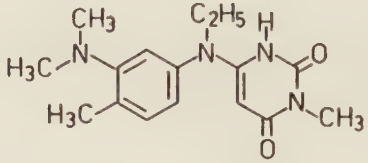
Spektroskopische Daten:

MS (140): m/z (rel.Int./%) = 288 (M^+.,100), 260 (63), 230 (18), 202 (17), 175 (18), 161 (20), 161 (20), 148 (20), 120 (24), 68 (36), 42 (36).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.24 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH}_3$),
2.99 (s; 6H, 3'-N-$(CH_3)_2$),
3.25 (s; 3H, 3-CH_3),
3.63 (q; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH}_2-CH_3$),
5.00 (s; 1H, 5-H),
6.40-6.81 (t/dt;3H,J=8Hz,2'-,4'-u.6'-H),
7.29 (t; 1H, J=8Hz, 5'-H),
10.31 (s,breit; 1H, mit D_2O aust.,-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3400w,3240,3160m (-NH), 3080m (=C-H), 2980m ($-CH_3$), 2900, 2810m (N-CH_3), 1700s (4C=O), 1640s (2C=O), 1565s (-NH), 1505m (C=C).

4.3. 6-[(3-Dimethylamino-4-methylphenyl)ethylamino]-3-methyl-2,4(1H,3H)-pyrimidindion (58c)



Das Produkt wird aus Essigsäureethylester umkristallisiert.

Farblose Plättchen; Schmp.: 169 °C.

Ausbeute: 2.6 g (85% d.Th.).

DC (FM I): Rf = 0.54

$C_{16}H_{22}N_4O_2$ (302.38) ber.: C 63.56 H 7.33 N 18.53 %
gef.: C 63.62 H 7.37 N 18.58 %

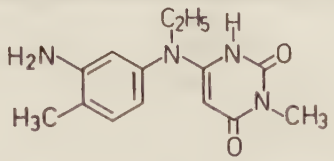
Spektroskopische Daten:

MS (35): m/z (rel.Int./%) = 302 (M^+.,100), 300 (89), 286 (39), 285 (22), 274 (27), 258 (29), 244 (14), 192 (13), 177 (24), 162 (13), 161 (17), 135 (18), 118 (16), 91 (16), 77 (20).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.07 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.27 (s ; 3H, 4'-CH_3),
2.64 (s ; 6H, 3'-N-$(CH_3)_2$),
3.30 (s ; 3H, 3-CH_3),
3.68 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
4.34 (s ; 1H, 5-H),
6.76 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6'-H),
6.81 (d ; 1H, J=2Hz, 2'-H),
7.22 (d ; 1H, J=8Hz, 5'-H),
10.25 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3410m (-NH), 3210,3150, (-NH), 3060w (=CH), 2970,2940m ($-CH_3$), 2830, 2780m ($-NCH_3$), 1700s (4C=O), 1630s (2C=O), 1595m 1500s (C=C).

4.4. 6-[(3-Amino-4-methylphenyl)ethylamino]-3-methyl-2,4(1H,3H)-pyrimidindion (58d)



6.4 g (20 mmol) 58e werden in 150 ml 10%iger KOH gelöst und zwei Stunden unter Rückfluß erhitzt. Durch tropfenweise Zugabe von 3 N HCl kommt es bei einem pH von etwa 8,5 zur Ausfällung. Der Niederschlag wird aus Ethanol umkristallisiert.

Farblose Kristalle, Schmp.: 219 °C, Ausb.: 4.1 g (74 % d.Th.).

DC (FM I): Rf = 0.34

$C_{14}H_{18}N_4O_2$ (274.33) ber.: C 61.30 H 6.61 N 20.42 %
gef.: C 61.41 H 6.67 N 20.35 %

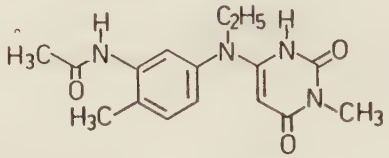
Spektroskopische Daten:

MS(260): m/z (rel.Int./%) = 274 (M^+.,100), 258 (15), 246 (90), 216 (12), 188 (18), 173 (13), 161 (28), 147 (36), 134 (41), 106 (42), 77 (35), 68 (61), 59 (30), 44 (83), 36 (41).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ /ppm= 1.05 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.05 (s ; 3H, 4'-CH_3),
3.03 (s ; 3H, 3-CH_3),
3.62 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
4.36 (s ; 1H, 5-H),
5.00 (s , breit; 2H, mit D_2O aust.,3'-NH_2),
6.32 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6'-H),
6.44 (d ; 1H, J=2Hz, 2'-H),
6.98 (d ; 1H, J=8Hz, 5'-H),
10.11 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ /cm^{-1} = 3411, 3250 (-NH), 2970m (-CH_3), 1696s (4C=O), 1617s (2C=O), 1501m (C=C).

4.5. 6-[(3-Acetamido-4-methylphenyl)ethylamino]-3-methyl-2,4(1H,3H)-pyrimidindion (58e)



Das Produkt wird aus Ethanol umkristallisiert.

Farblose Kristalle, Schmp.: 210 °C, Ausb.: 2.5 g (79 % d.Th.).

DC (FM V): Rf = 0.24

$C_{16}H_{20}N_4O_3$ (316.36) ber.: C 60.75 H 6.37 N 17.71 %
gef.: C 60.76 H 6.47 N 17.61 %

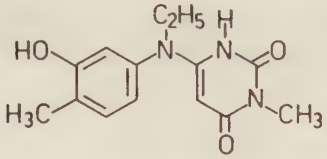
Spektroskopische Daten:

MS(180): m/z (rel.Int./%) = 316 (M^+.,30), 273 (100), 257 (88), 246 (29), 216 (12), 200 (16), 172 (12), 147 (21), 106 (18), 77 (15), 68 (41), 59 (9).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.06 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.06 (s ; 3H, 3'-$NCOCH_3$),
2.23 (s ; 3H, 4'-CH_3),
3.04 (s ; 3H, 3-CH_3),
3.67 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
4.33 (s ; 1H, 5-H),
6.94 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6'-H),
7.29 (d ; 1H, J=8Hz, 5'-H),
7.39 (d ; 1H, J=2Hz, 2'-H),
9.35 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,3'-NH)
10.37 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3408,3206 breit (-NH), 3037m (=C-H), 2970s ($-CH_3$ 1697s (4C=O), 1624s (2C=O), 1600 (3'C=O), 1497m (C=C).

4.6. 6-[Ethyl(3-hydroxy-4-methylphenyl)amino]-3-methyl-2,4(1H,3H)-pyrimidindion (58f)



Abweichend von der allgemeinen Vorschrift wird die Schmelze nach dem Abkühlen mit 50 ml Essigsäureethylester versetzt und solange gerührt, bis eine homogene Suspension entsteht. Das ungelöste Produkt wird abgesaugt und überschüssiges 55f durch zweimaliges heißes Extrahieren mit Essigsäureethylester, Trocknen und Eindampfen des Lösungsmittels zurückgewonnen. Der Niederschlag wird noch zweimal mit je 20 ml Wasser gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert.

Farblose Kristalle, Schmp.: 239 °C, Ausb.: 2.1 g (76 % d.Th.).
DC (FM I): Rf = 0.42

$C_{14}H_{17}N_3O_3$ (275.31) ber.: C 61.08 H 6.22 N 15.26 %
gef.: C 61.07 H 6.31 N 15.27 %

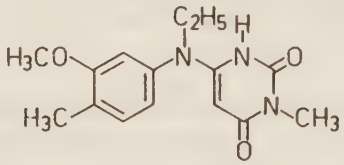
Spektroskopische Daten:

MS(220): m/z (rel.Int./%) = 275 (M^+.,93), 260 (16), 247 (100), 217 (10), 189 (21), 162 (16), 148 (33), 135 (29), 107 (16), 77 (35), 68 (63), 56 (23), 41 (18), 39 (16).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.07 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH}_3$),
2.14 (s ; 3H, 4'-CH_3),
3.05 (s ; 3H, 3-CH_3),
3.48 (s ; 1H, 5-H),
3.66 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH}_2-CH_3$),
6.58 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6'-H),
6.61 (d ; 1H, J=2Hz, 2'-H),
7.14 (d ; 1H, J=8Hz, 5'-H),
9.55 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,3'-OH),
10.27 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): /cm^{-1} = 3400, (-NH), 3220 (-OH), 3140 (-NH), 2970 (-CH_3), 1690s (4C=O), 1625s (2C=O), 1595s (C=C), 1500m (C=C), 1460 (-CH_3).

4.7. 6-[Ethyl(3-methoxy-4-methylphenyl)amino]-3-methyl-2,4(1H,3H)-pyrimidindion (58g)



Das Produkt wird aus Ethanol umkristallisiert.

Farblose Kristalle, Schmp.: 175 °C, Ausb.: 2.2 g (77 % d.Th.).

DC (FM I): Rf = 0.62

$C_{15}H_{19}N_3O_3$ (289.34) ber.: C 62.27 H 6.62 N 14.52 %
gef.: C 62.06 H 6.63 N 14.47 %

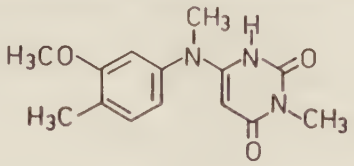
Spektroskopische Daten:

MS(160): m/z (rel.Int./%) = 289 (M^+.,100), 260 (47), 231 (11), 217 (6), 189 (15), 176 (16), 163 (24), 149 (37), 136 (9), 117 (6), 106 (12), 91 (27), 65 (27), 39 (14).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ /ppm= 1.08 (t ; 3H, J=7Hz, -CH_2-$\underline{CH_3}$),
2.17 (s ; 3H, 4'-CH_3),
3.04 (s ; 3H, 3-CH_3),
3.71 (q ; 2H, J=7Hz, -$\underline{CH_2}$-CH_3),
3.78 (s ; 3H, 3'-OCH_3),
4.37 (s ; 1H, 5-H),
6.70 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6'-H),
6.77 (d ; 1H, J=2Hz, 2'-H),
7.21 (d ; 1H, J=8Hz, 5'-H),
10.25 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ /cm^{-1} = 3400, (-NH), 3220 (-OH), 3140 (-NH), 2970 (-CH_3), 1690s (4C=O), 1625s (2C=O), 1595s (C=C), 1500m (C=C), 1460 (-CH_3).

4.8. 6-[(3-Methoxy-4-methylphenyl)methylamino]-3-methyl-2,4(1H,3H)-pyrimidindion (58h)



Das Produkt wird aus Ethanol umkristallisiert.

Farblose Kristalle, Schmp.: 208 °C, Ausb.: 2.1 g (74 % d.Th.).

DC (FM I): Rf = 0.59

$C_{14}H_{17}N_3O_3$ (275.31) ber.: C 61.08 H 6.22 N 15.26 %
gef.: C 61.18 H 6.29 N 15.22 %

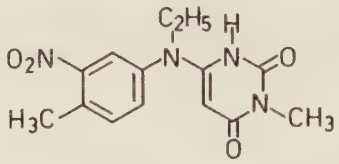
Spektroskopische Daten:

MS(200): m/z (rel.Int./%) = 275 (M^+.,100), 260 (22), 245 (17), 217 (30), 202 (20), 187 (44), 175 (46), 162 (36), 106 (12), 65 (28), 39 (15).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 2.17 (s ; 3H, 4'-CH_3),
3.07 (s ; 3H, 3-CH_3),
3.25 (s ; 3H, 1'-NCH_3),
3.77 (s ; 3H, 3'-OCH_3),
4.44 (s ; 1H, 5-H),
6.75 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6'-H),
6.80 (d ; 1H, J=2Hz, 2'-H),
7.16 (d ; 1H, J=8Hz, 5'-H),
10.30 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3430,3180, 3120 (-NH), 3060,3000 (=C-H), 2970,2920 (-NCH_3), 2850 (-OCH_3), 1705s (4C=O), 1655s (2C=O), 1640 (-NH), 1595, 1500s (C=C).

4.9. 6-[Ethyl(4-methyl-3-nitrophenyl)amino]-3-methyl-2,4(1H,3H)-pyrimidindion (58i)



Abweichend von der allgemeinen Vorschrift werden 6.48 g 55i (36 mmol) und 0.96 g (6 mmol) 57 verrieben und 4,5 Stunden bei 147 °C im Ölbad zusammengeschmolzen. Der Rückstand wird nach dem Erkalten mit Diethylether kristallisiert, abgesaugt, dreimal mit Diethylether heiß gewaschen und überschüssiges Amin aus dem Lösungsmittel zurückgewonnen. Laut DC erhält man neben dem gewünschten Produkt sehr viele Zersetzungsprodukte. Daher wird 58i säulenchromatographisch isoliert.
Säule: Länge 1 m, Ø 30 mm;
Füllmittel: Kieselgel 60 Fa. Merck; Korngröße: 63-200 µm;
Fließmittel: IX.

Aus 2.0 g Substanzgemisch erhält man 360 mg 58i.

Gelbe Kristalle, Schmp.: 188 °C, Ausb.: 0.36 g (20 % d.Th.).

DC (FM IX): Rf = 0.17

$C_{14}H_{16}N_4O_4$ (304.31) ber.: C 55.26 H 5.30 N 18.41 %
gef.: C 55.18 H 5.34 N 18.49 %

Spektroskopische Daten:

MS(260): m/z (rel.Int./%) = 304 (M^+.,27), 285 (24), 276 (29), 257 (39), 231 (24), 200 (25), 172 (33), 160 (13), 133 (33), 118 (18), 104 (21), 90 (27), 89 (28), 77 (40), 68 (100).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.07 (t ; 3H, J=7Hz, -CH_2-$\underline{CH_3}$),
(250 MHz) 2.52 (s ; 3H, 4'-CH_3),
3.06 (s ; 3H, 3-CH_3),
3.72 (q ; 2H, J=7Hz, -$\underline{CH_2}$-CH_3),
4.70 (s ; 1H, 5-H),
7.52 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6'-H),
7.56 (d ; 1H, J=8Hz, 5'-H),
7.88 (d ; 1H, J=2Hz, 2'-H),
10.66 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3453,3164 (-NH(, 3072m (=C-H), 2975m (-CH_3), 1700s (4C=O), 1635s (2C=O), 1602s (C=C), 1567m (-NH), 1527s (-NO_2), 1494m (C=C), 1346s (-NO_2).

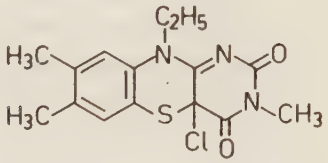
5. Synthese von 5-Thiaflavinen (66 u. 67)

5.1. 4a-Chlor-2,3,4,5-tetrahydro-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazine (64, 65)

Allgemeine Vorschrift:
1 g (etwa 3.5 mmol) des entsprechenden Anilinouracils (58) werden in 50 ml wasserfreiem Methylenchlorid gelöst, 15 Minuten mit Argon gespült, mit 10 ml Thionylchlorid versetzt und drei Stunden unter Argonbegasung rückfließend erhitzt. Anschließend dampft man die grüne Reaktionslösung bis zur Trockne ein, nimmt den Rückstand noch zweimal mit je 50 ml Methylenchlorid auf und zieht wiederum das Lösungsmittel ab, um alle Reste an überschüssigem Thionylchlorid zu entfernen. Als Rückstand erhält man das 4a-Cl-Thiaflavin in Form von gelbgrünen Kristallen, die aus Methylenchlorid/n-Hexan (1:1) umkristallisiert werden können.

Die Substanz ist extrem licht- und sauerstoffempfindlich.

5.1.1. 4a-Chlor-10-ethyl-2,3,4,5-tetrahydro-3,7,8-trimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin (64a)



Grün-gelbe Kristalle, Schmp.: 170 °C (Zers.).

Ausbeute: 1.0 g (82 % d.Th.).

$C_{15}H_{16}ClN_3O_2S$ (337.83) ber.: C 53.33 H 4.77 N 12.43 %
gef.: C 52.11 H 4.83 N 12.40 %

Spektroskopische Daten:

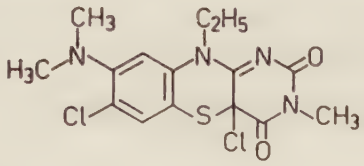
MS(150): m/z (rel.Int./%) = 340 (11), 338 (M^+.,27), 303 (62), 275 (60), 246 (42), 218 (23), 203 (28), 190 (25), 166 (68), 149 (24), 129 (100), 94 (51).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ /ppm= 1.42 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH}_3$),
(250 MHz) 2.28 (s ; 3H, 7-CH_3),
2.36 (s ; 3H, 8-CH_3),
3.38 (s ; 3H, 3-CH_3),
4.22 (dq; 1H, J=7/14Hz, $-\underline{CH}^1-CH_3$),
4.51 (dq; 1H, J=7/14Hz, $-\underline{CH}^2-CH_3$),
7.13 (s ; 1H, 9-H),
7.20 (s ; 1H, 6-H),

IR ($CHCl_3$): $\tilde{\nu}$ /cm^{-1} = 3020, (=C-H), 2990,2970,2930m ($-CH_3$), 2880,2860 ($-NCH_3$), 1715w (4C=O), 1670s (2C=O), 1600,1495w (C=C).

UV/VIS:
(CH_2Cl_2) λ_{max}($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 250 (21.0), 280s (5.4), 354 (6.0).

5.1.2. 4a-Chlor-7-chlor-8-dimethylamino-10-ethyl-2,3,4,5-tetrahydro-3-methyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b]-[1,4]benzothiazin (64b)



Grün-gelbe Kristalle, Schmp.: 220 °C (Zers.).

Ausbeute: 0.96 g (72 % d.Th.).

$C_{15}H_{16}Cl_2N_4O_2S$ (387.29) ber.: C 46.52 H 4.16 N 14.47 %
gef.: C 46.85 H 4.07 N 14.75 %

Spektroskopische Daten:

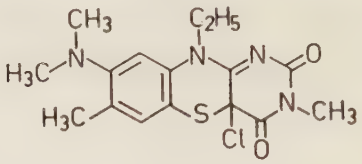
MS(300): m/z (rel.Int./%) = 387 (M^+.,25), 351 (11), 318 (31), 303 (62), 289 (42), 275 (62), 230 (52), 200 (49), 197 (40), 156 (28), 133 (19), 95 (20), 69 (70), 64 (100), 51 (81).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ /ppm= 1.18 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
(250 MHz) 2.76 (s; 6H, 8-$N(CH_3)_2$),
3.06 (s; 3H, 3-CH_3),
4.16-4.75 (dq/dq; 2H,J=7/14Hz,$-\underline{CH_2}-CH_3$),
6.74 (s; 1H, 9-H),
7.10 (s; 1H, 6-H).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 2970m ($-CH_3$), 1717w (4C=O), 1676s (2C=O), 1598m (C=C), 1475, 1441, 1383m ($-CH_3$).

UV/VIS:
(CH_2Cl_2) λ_{max}($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 289 (16.5), 339 (4.0).

5.1.3. 4a-Chlor-8-dimethylamino-10-ethyl-2,3,4,5-tetrahydro-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b]-[1,4]benzothiazin (64c)



Grüne-gelbe Kristalle, Schmp.: 148 °C (Zers.).

Ausbeute: 1.0 g (83 % d.Th.).

$C_{16}H_{19}ClN_4O_2S$ (366.87) ber.: C 52.38 H 5.22 N 15.27 %
gef.: C 51.73 H 5.62 N 15.01 %

Spektroskopische Daten:

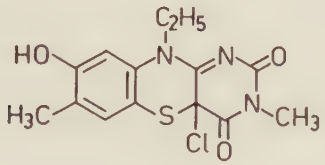
MS(180): m/z (rel.Int./%) = 366 (M^+.,38), 332 (46), 303 (66), 290 (26), 236 (19), 221 (21), 167 (62), 128 (94), 100 (63), 91 (62), 77 (38), 57 (34), 36 (100).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ/ppm= 1.41 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH}_3$),
(250 MHz) 2.30 (s ; 3H, 7-CH_3),
2.37 (s ; 6H, 8-$N(CH_3)_2$),
3.42 (s ; 3H, 3-CH_3),
4.24 (dq; 1H, J=7/14Hz, $-\underline{CH}^1-CH_3$),
4.55 (dq; 1H, J=7/14Hz, $-\underline{CH}^2-CH_3$),
7.20 (s ; 1H, 9-H),
7.26 (s ; 1H, 6-H).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 2964m ($-CH_3$), 2662w ($-NCH_3$), 1718w (4C=O), 1670s (2C=O), 1489w (C=C), 1444s, 1381m ($-CH_3$).

UV/VIS:
(CH_2Cl_2) λ_{max}($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 245 (15.6), 282s (7.5), 329 (5.8).

5.1.4. 4a-Chlor-10-ethyl-2,3,4,5-tetrahydro-8-hydroxy-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]-benzothiazin (64f)



Grüne-gelbe Kristalle, Schmp.: 188 °C (Zers.).

Ausbeute: 1.0 g (85 % d.Th.).

$C_{14}H_{14}ClN_3O_3S$ (339.80) ber.: C 49.49 H 4.15 N 12.37 %
gef.: C 50.14 H 4.65 N 11.40 %

Spektroskopische Daten:

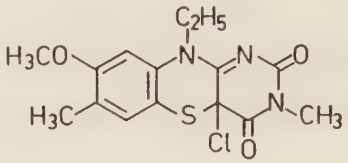
MS(260): m/z (rel.Int./%) = 339 (M^+.,40), 305 (53), 290 (29), 276 (63), 192 (21), 179 (15), 160 (11), 128 (19), 100 (13), 69 (14), 57 (100), 39 (24).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.27 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.11 (s; 3H, 7-CH_3),
3.17 (s; 3H, 3-CH_3),
3.99 (m; 2H, J=7/14Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
7.08 (s; 1H, 9-H),
7.61 (s; 1H, 6-H),
9.53 (s; 1H, mit D_2O aust., 8-OH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3424s (-OH), 2670w ($-CH_3$), 1717w (4C=O), 1670s (2C=O), 1594m (C=C), 1490w (C=C), 1384m (-OH).

UV/VIS:
(CH_2Cl_2) λ_{max} (ε x 10^{-3}) = 244 (19.7), 280s (5.8), 318s (4.4), 350 (5.2).

5.1.5. 4a-Chlor-10-ethyl-2,3,4,5-tetrahydro-8-methoxy-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]-benzothiazin (64g)



Grüne-gelbe Kristalle, Schmp.: 218 °C (Zers.).

Ausbeute: 1.1 g (90 % d.Th.).

$C_{15}H_{16}ClN_3O_3S$ (353.82) ber.: C 50.92 H 4.56 N 11.88 %
gef.: C 49.28 H 4.49 N 11.82 %

Spektroskopische Daten:

MS(180): m/z (rel.Int./%) = 355 (5), 353 (M^+.,11), 318 (73), 290 (72), 261 (19), 233 (18), 205 (24), 190 (24), 109 (17), 36 (100).

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ/ppm= 1.42 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH}_3$),
(250 MHz) 2.24 (s ; 3H, 7-CH_3),
3.42 (s ; 3H, 3-CH_3),
3.92 (s ; 3H, 8-OCH_3),
4.30 (dq; 1H, J=7/14Hz, $-\underline{CH}^1-CH_3$),
4.53 (dq; 1H, J=7/14Hz, $-\underline{CH}^2-CH_3$),
6.84 (s ; 1H, 9-H),
7.24 (s ; 1H, 6-H).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3000 (=C-H), 2963 ($-CH_3$), 2935 ($-NCH_3$), 2850 ($-OCH_3$), 1718w (4C=O), 1667s (2C=O), 1597,1506 (C=C).

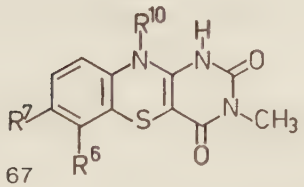
UV/VIS:
(CH_2Cl_2) λ_{max}($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 245 (19.2), 279 (7.8), 311s (4.8), 361 (5.6).

5.2 1,2,3,4-Tetrahydro-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b]-[1,4]benzothiazine (66 u. 67)

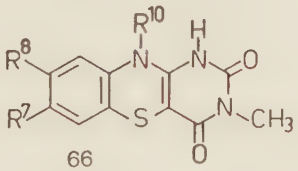
Allgemeine Vorschrift:

1 g (etwa 3 mmol) 4a-Cl-Thiaflavin (64/65) werden in 50 ml Methylenchlorid unter Argonatmosphäre gelöst.
Nach Zugabe von 1 ml Hydrazinhydrat färbt sich die grüne Lösung rasch erst blau und dann gelb.
Man erhitzt zwei Stunden rückfließend unter Argonbegasung, saugt die ausgefallene Substanz ab und kristallisiert sie aus Ethanol um.
Die Methylenchloridlösung wird zur Trockne eingeengt, der amorphe Rückstand mit Diethylether kristallisiert und ebenfalls aus Ethanol umkristallisiert.

Die Substanzen sind licht- und sauerstoffempfindlich.



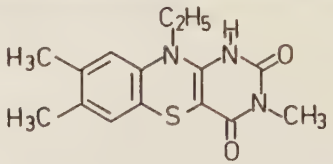
67



66

	R^7	$R^6 = R^8$	R^{10}
66 a	CH_3	CH_3	C_2H_5
66 b	Cl	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
66,67 c	CH_3	$N(CH_3)_2$	C_2H_5
66,67 d	CH_3	NH_2	C_2H_5
66,67 f	CH_3	OH	C_2H_5
66 g	CH_3	OCH_3	C_2H_5
66 h	CH_3	OCH_3	CH_3

5.2.1. 10-Ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-3,7,8-trimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin (66a)



Gelbe Kristalle, Schmp.: 253 °C (Zers.).

Ausbeute: 0.70 g (78 % d.Th.).

DC (FM I): Rf = 0.55

$C_{15}H_{17}N_3O_2S$ (303.39) ber.: C 59.39 H 5.65 N 13.85 %
gef.: C 59.12 H 5.21 N 13.84 %

Spektroskopische Daten:

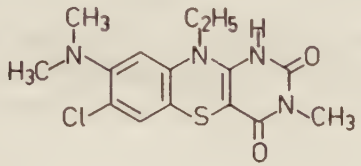
MS(200): m/z (rel.Int./%) = 303 (M^+.,75), 274 (100), 246 (28), 205 (35), 189 (41), 174 (40), 116 (14), 103 (21), 91 (32), 77 (15), 39 (10).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ /ppm= 1.17 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.11 (s; 3H, 7-CH_3),
2.15 (s; 3H, 8-CH_3),
3.10 (s; 3H, 3-CH_3),
3.88 (q; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
6.85 (s; 2H, 6- u. 9-H),
11.36 (s, breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ /cm^{-1} = 3440,3220,3140m (-NH), 2980,2920w ($-CH_3$), 2850w ($-NCH_2-$), 1685s (4C=O), 1625s (2C=O), 1590,s (C=C), 1560w (-NH), 1490s (C=C), 1450,1400w ($-CH_3$).

UV/VIS:
(1 N NaOH) λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 262 (28.0).
(Puffer pH 6.1) 254 (21.4), 285 (8.5).
(TFE) 308 (6.3), 375 (2.7).

5.2.2. 7-Chlor-8-dimethylamino-10-ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-3-methyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b]-[1,4]benzothiazin (66b)



Gelbe Kristalle, Schmp.: 240 °C (Zers.).

Ausbeute: 0.80 g (87 % d.Th.), DC (FM I): Rf = 0.46

$C_{15}H_{17}ClN_4O_2S$ (352.84) ber.: C 51.06 H 4.86 N 15.88 %
gef.: C 50.94 H 4.97 N 15.68 %

Spektroskopische Daten:

MS(200): m/z (rel.Int./%) = 354 (39), 352 (M^+.,83), 325 (39), 323 (100), 302 (18), 288 (9), 238 (10), 230 (6), 211 (6), 119 (5), 69 (12), 58 (23), 43 (24).

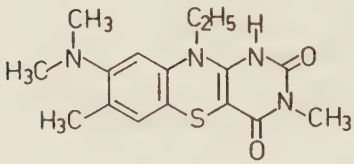
^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ /ppm= 1.21 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.72 (s; 6H, $8-N(CH_3)_2$),
3.12 (s; 3H, $3-CH_3$),
3.93 (q; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
6.68 (s; 1H, 9-H),
7.13 (s; 1H, 6-H),
11.47 (s, breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

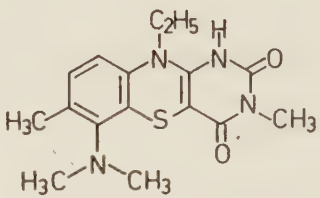
IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3218,3136, (-NH), 2942,2872w ($-CH_3$), 2829,2784,2354w ($-NCH_2-$), 1690s (4C=O), 1619s (2C=O), 1583m (C=C), 1540w (-NH), 1484s (C=C), 1456,1436m ($-CH_3$).

UV/VIS:
(1 N NaOH) λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 263 (33.6), 287s(31.2), 333s (3.5).
(Methanol) 263 (33.6), 287s(31.2), 333s (3.5).
(6 N HCl) 241 (20.2), 256 (22.5), 287 (31.2), 333 (31.2).

5.2.3. 8-Dimethylamino-10-ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b]-[1,4]benzothiazin (66c)

6-Dimethylamino-10-ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b]-[1,4]benzothiazin (67c)





Die Umsetzung erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift. Dabei entstehen laut ^{1}H-NMR-Spektrum die isomeren 5-Thiaflavine (66c und 67c), wobei das 6,7-Isomere zu 35% und das 7,8-Isomere zu 65% gebildet wird.
Säulenchromatographisch lassen sich die beiden Isomeren trennen:
Säule: Länge 58 cm, Ø 25 mm;
Füllmittel: Kieselgel 60 Fa. Merck; Korngröße: 63-200 µm;
Fließmittel: X
Aus 500 mg Substanzgemisch konnten isoliert werden:
160 mg 6,7-Isomeres = 32% bezogen auf das Rohprodukt,
240 mg 7,8-Isomeres = 48% bezogen auf das Rohprodukt.

66c: Gelbe Kristalle, Schmp.: 262 °C (Zers.).
67c: Gelbe Kristalle, Schmp.: 242 °C (Zers.).

Ausbeute: 66c: 0.48 g (48 % d.Th.).
67c: 0.32 g (32 % d.Th.).

DC (FM I): 66c Rf = 0.44
67c Rf = 0.59

$C_{16}H_{20}N_4O_2S$ (332.42) ber.: C 57.81 H 6.06 N 16.85 %
gef.: C 57.62 H 6.12 N 16.79 %

Spektroskopische Daten:

MS(180): m/z (rel.Int./%) = 332 (M^+.,84), 303 (100), 288 (17), 273 (13), 246 (15), 203 (15), 174 (20), 151 (36), 132 (49), 123 (26), 109 (80), 85 (33), 83 (52), 77 (27), 58 (90).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm=

66c: 1.19 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.14 (s; 3H, 7-CH_3),
2.60 (s; 6H, 8-$N(CH_3)_2$),
3.10 (s; 3H, 3-CH_3),
3.90 (q; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
6.60 (s; 1H, 9-H),
6.84 (s; 1H, 6-H),
11.15 (s, breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

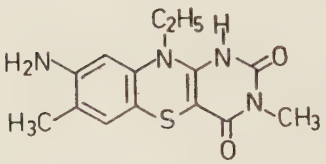
67c: 1.13 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.17 (s; 3H, 7-CH_3),
2.72 (s; 6H, 6-$N(CH_3)_2$),
3.10 (s; 3H, 3-CH_3),
3.77 (q; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
6.69 (d; 1H, J=8Hz, 9-H),
6.85 (d; 1H, J=8Hz, 8-H),
11.10 (s, breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

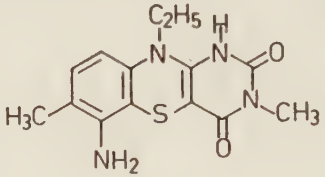
IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3200,3150, (-NH), 2990,2940m ($-CH_3$), 2820,2770m ($-NCH_3$), 1690s (4C=O), 1630s (2C=O), 1590s (C=C), 1490s (C=C), 1450 ($-CH_3$).

UV/VIS:
(1 N NaOH) λ_{max} (ε x 10^{-3}) = 235 (18.6), 262 (24.0).
(Puffer pH 5.0) 255 (16.7), 285 (9.1).
(35%ige H_3PO_4) 285 (7.4), 272 (5.2).

5.2.4. 8-Amino-10-ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin (66d)

6-Amino-10-ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin (67d)





500 mg (1.8 mmol) 58d werden in 20 ml Thionylchlorid unter Argonatmosphäre gelöst und eine Stunde rückfließend erhitzt. Nach Zusatz von 50 ml wasserfreiem, entgasten Methylenchlorid, wird weitere 6 Stunden zum Sieden erhitzt. Um überschüssiges Methylenchlorid zu entfernen, dampft man die grüne Reaktionslösung bis zur Trockne ein, versetzt nochmals zweimal mit je 50 ml Methylenchlorid und dampft wiederum bis zur Trockne ein. Der Rückstand, bestehend aus nicht umgesetzten 58d und 4a-Cl-Thiaflavin (64/65d), wird in vorbehandeltem CH_2Cl_2 gelöst und mit 0.5 ml Hydrazinhydrat versetzt. Man kann einen Farbwechsel von grün über blau nach gelb beobachten. Nach vierstündigem rückfließenden Erhitzen dampft man das Lösungsmittel ab, kristallisiert den amorphen Rückstand mit wasserfreiem, entgasten Diethylether, saugt ihn ab und erhitzt ihn mit entgastem Ethanol zum Sieden. Der verbleibende unlösliche Niederschlag wird gesammelt und unter Argon-Atmosphäre aufbewahrt. Man erhält 77 mg Isomerengemisch, wobei das 6-Amino-Derivat zu etwa 25% entsteht.
Die gesamte Umsetzung und Isolierung erfolgt unter ständiger Argonbegasung. Die Substanzen sind äußerst licht- und sauerstoffempfindlich!

Gelbe Kristalle, Schmp.: 278 °C (Zers.);
Ausbeute: 77 mg Isomerengemisch (14 % d.Th.).

$C_{14}H_{16}N_4O_2S$ (304.37) ber.: C 55.25 H 5.30 N 18.41 %
gef.: C 54.81 H 5.23 N 18.21 %

Spektroskopische Daten:

MS(300): m/z (rel.Int./%) = 304 (M^+.,89), 275 (100), 272 (10), 271 (9), 247 (8), 218 (8), 206 (4), 191 (4), 190 (5).

^{1}H-NMR ([D_7]DMF): δ /ppm=

66d: 1.28 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.06 (s; 3H, 7-CH_3),
3.18 (s; 3H, 3-CH_3),
3.99 (q; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
6.00 (s, breit; 2H, mit D_2O aust.,8-NH_2),
6.55 (s; 1H, 9-H),
6.68 (s; 1H, 6-H),
11.18 (s, breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

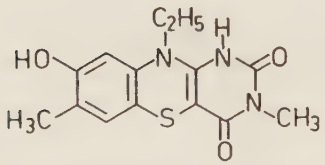
67d: 1.21 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.12 (s; 3H, 7-CH_3),
3.23 (s; 3H, 3-CH_3),
4.03 (q; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
6.00 (s, breit; 2H, mit D_2O aust.,6-NH_2),
6.32 (d; 1H, J=8Hz, 9-H),
6.83 (d; 1H, J=8Hz, 8-H),
11.18 (s, breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

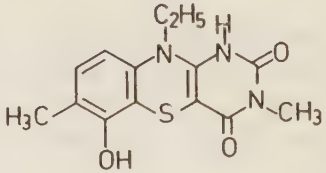
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ /cm^{-1} = 3360,3230w (-NH), 3350,3310w ($-NH_2$), 3050w (=C-H), 2980,2930w ($-CH_3$), 1690s (4C=O), 1615s (2C=O), 1605s ($-NH_2$), 1505 (-NH), 1490s (C=C), 1460w ($-CH_3$).

UV/VIS:
(1 N NaOH) λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 234 (13.1), 258 (14.2), 286s (5.4).
(Methanol) 212 (12.9), 245 (10.9), 284s (6.2).
(3 N HCl) 208 (11.3), 221 (10.0), 252 (9.4),
285 (4.9).

5.2.5. 10-Ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-8-hydroxy-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin (66f)

10-Ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-6-hydroxy-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin (67f)





Laut ^{1}H-NMR-Spektrum wird das 6-Hydroxy-Derivat (67f) lediglich zu 8% gebildet.
Das 7,8-Isomere (66f) erhält man, abweichend von der allgemeinen Vorschrift, wie folgt:
Die nach der Reduktion mit Hydrazinhydrat ausgefallene Substanz und der durch Diethylether kristallisierte Rückstand werden in 100 ml Ethanol rückfließend erhitzt, wobei reines 7,8-Isomeres als unlöslicher Niederschlag isoliert werden kann.

Gelbe Kristalle, Schmp.: 330 °C .

Ausbeute: 66f: 0.50 g (55 % d.Th.).

$C_{14}H_{15}N_3O_3S$ (305.35) ber.: C 55.07 H 4.95 N 13.76 %
gef.: C 54.96 H 4.97 N 13.92 %

Spektroskopische Daten:

MS(280): m/z (rel.Int./%) = 305 (M^+.,94), 276 (100), 249 (15), 220 (18), 207 (14), 191 (17), 176 (15), 164 (8), 121 (6), 109 (6), 77 (11), 69 (9), 39 (11).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm=

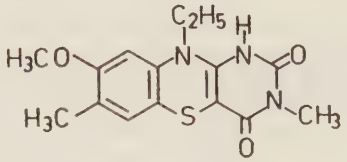
66f: 1.23 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.04 (s; 3H, 7-CH_3),
3.14 (s; 3H, 3-CH_3),
3.83 (q; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
6.51 (s; 1H, 9-H),
6.81 (s; 1H, 6-H),
9.38 (s; 1H, mit D_2O aust., 8-OH),
11.19 (s, breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

67f: 1.09 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.10 (s; 3H, 7-CH_3),
3.19 (s; 3H, 3-CH_3),
3.47 (q; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
6.62 (d; 1H, J=8Hz, 9-H),
6.93 (d; 1H, J=8Hz, 8-H),
9.34 (s; 1H, mit D_2O aust., 6-OH),
11.23 (s, breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3370s (-OH), 3260s,3180s,3090w (-NH), 3020,3040m (=C-H), 2990,2970w ($-CH_3$), 1720s (4C=O), 1650s (2C=O), 1610s (C=C), 1540s (-NH), 1380s ($-CH_3$), 1360s (-OH).

UV/VIS:
(1 N NaOH) λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 237 (19.0), 266 (37.6), 309s (6.2).
(Puffer pH 8.6) 238s(22.0), 258 (30.8).
(Puffer pH 4.0) 208 (23.6), 228 (19.2), 251 (20.0), 285 (8.2).
(6 N HCl) 237 (24.5), 225 (17.1), 251 (18.8), 282 (8.1), 370 (2.2).

5.2.6. 10-Ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-8-methoxy-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin (66g)



Gelbe Kristalle, Schmp.: 313 °C (Zers.).

Ausbeute: 0.72 g (80 % d.Th.).

DC (FM III): Rf = 0.75

$C_{15}H_{17}N_3O_3S$ (319.38) ber.: C 56.41 H 5.36 N 13.16 %
gef.: C 56,19 H 5.36 N 13.22 %

Spektroskopische Daten:

MS(240): m/z (rel.Int./%) = 319 (M^+.,83), 290 (100), 262 (12), 247 (10), 233 (16), 206 (8), 190 (12), 162 (7), 109 (6).

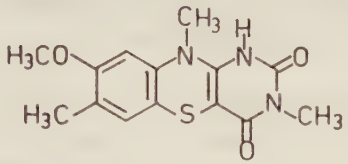
^{1}H-NMR ([D_7]DMF): δ /ppm= 1.33 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.21 (s; 3H, 7-CH_3),
2.69 (s; 3H, 3-CH_3),
3.20 (s; 3H, 8-OCH_3),
4.12 (q; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
6.77 (s; 1H, 9-H),
6.91 (s; 1H, 6-H),
11.20 (s, breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3431,3230 (-NH), 2964 ($-CH_3$), 1696s (4C=O), 1622s (2C=O), 1596s (C=C), 1489 (-NH), 1386 ($-CH_3$).

UV/VIS:

(1 N NaOH) λ_{max} (ε x 10^{-3}) =	228 (13.2), 261 (20.0), 300s (5.1).
(Methanol)	205 (18.8), 227 (15.6), 249 (16.1),
	285 (6.5), 361 (1.7).
(TFE)	305 (5.6), 383 (2.4).

5.2.7. 1,2,3,4-Tetrahydro-8-methoxy-3,7,10-trimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin (66h)



Gelbe Kristalle, Schmp.: 330 °C .

Ausbeute: 0.90 g (82 % d.Th.).

DC (FM I): Rf = 0.48

$C_{14}H_{15}N_3O_3S$ (305.35) ber.: C 55.07 H 4.95 N 13.76 %
gef.: C 54.33 H 4.96 N 13.76 %

Spektroskopische Daten:

MS(240): m/z (rel.Int./%) = 305 (M^+.,100), 290 (61), 273 (12), 262 (13), 248 (14), 233 (16), 220 (10), 205 (14), 190 (7), 178 (7), 153 (8), 109 (5), 77 (7), 65 (5), 39 (5).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 2.04 (s; 3H, 7-CH_3),
3.12 (s; 3H, 3-CH_3),
3.33 (s; 3H, 10-CH_3),
3.81 (s; 3H, 8-OCH_3),
6.53 (s; 1H, 9-H),
6.84 (s; 1H, 6-H),
11.18 (s, breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3441,3250,3090m (-NH), 2954 (-CH_3), 1684s (4C=O), 1624s (2C=O), 1597,1490s (C=C), 1464,1441m (-CH_3).

UV/VIS:
(1 N NaOH) λ_{max} (ε x 10^{-3}) = 223 (21.9), 255 (24.2), 285s (8.0), 325 (3.2).

6. Oxidation der 5-Thiaflavine

6.1. 1,2,3,4-Tetrahydro-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b]-[1,4]benzothiazin-Radikal-Kation (71)

Allgemeine Darstellungsmethoden:
Das Radikal-Kation kann lediglich als Perchlorat und Tribromid isoliert werden [89]. Ansonsten ist es nur UV-mäßig zu erfassen und wird hergestellt durch:

A) - Erwärmen einer Lösung des reduzierten 5-Thiaflavins (66) in TFE (Oxidation durch Luftsauerstoff).

B) - Versetzen einer mmolaren Lösung des reduzierten 5-Thiaflavins (66) in TFE mit der gleichen Menge einer 0.5 mmolaren Lösung DBP in TFE.

C) - Lösen des reduzierten 5-Thiaflavins (66) in H_2SO_4 konz..

D) - Erwärmen einer Lösung von reduziertem 5-Thiaflavin (66) in $HClO_4$.

E) - Komproportionierung des reduzierten 5-Thiaflavins (66) und seinem Sulfoxid (73) in TFE.

6.1.1. 10-Ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-3,7,8-trimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-Radikal-Kation (71a)

A: UV/VIS (TFE):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 276 (11.1), 307 (5.2), 554 (5.4) nm

B: UV/VIS (TFE):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 278 (8.5), 308 (3.7), 554 (4.2) nm

C: UV/VIS (H_2SO_4 konz.):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 266 (17.7), 340 (3.6), 560 (6.8) nm

D: UV/VIS ($HCLO_4$):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 360s (1,6), 554 (1.4) nm

E: UV/VIS (TFE):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 262 (9.6), 307 (4.3), 340s (3.0),
554 (3.3) nm

6.1.2. 7-Chlor-8-dimethylamino-10-ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-3-methyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-Radikal-Kation (71b)

A: UV/VIS (TFE):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 260 (16.4), 288 (10.3), 335 (3.8) nm

B: UV/VIS (TFE): λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$)
sofort gemessen = 335 (3.8), 288 (10.3), 260 (16.4) nm
nach 3 Tagen = 281 (21.0), 315s (7.4), 550 (12.6),
615s (8.8) nm

6.1.3. 8-Dimethylamino-10-ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-Radikal-Kation (71c)

B: UV/VIS (TFE):
λ_{max}(ε x 10^{-3}) = 278 (8.9), 505 (1.4) nm

C: UV/VIS (H_2SO_4 konz.):
λ_{max}(ε x 10^{-3}) = 505 nm

D: UV/VIS ($HClO_4$):
λ_{max}(ε x 10^{-3}) = 340s (1.6), 507 (1.4) nm

E: UV/VIS (TFE):
λ_{max}(ε x 10^{-3}) = 285 (9.2), 365s (2.0), 505 (1.9) nm

6.1.4. 8-Amino-10-ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-Radikal-Kation (71d)

A: UV/VIS (TFE):
λ_{max}(ε x 10^{-3}) = 270 (1.1), 288 (4.6), 332s (1.2) nm

B: UV/VIS (TFE):
λ_{max}(ε x 10^{-3}) = 285 (1.1), 305 (0.9), 385 (0.2),
305 (0.9), 285 (1.1) nm

C: UV/VIS (H_2SO_4 konz.): λ_{max}(ε x 10^{-3})

sofort gemessen = 261 (8.5), 309 (3.7), 361 (1.7),
506 (0.9) nm

nach 4 Tagen = 261 (8.7), 305s (2.1), 345 (1.8),
355 (1.7), 506 (2.3) nm

6.1.5. 10-Ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-8-hydroxy-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-Radikal-Kation (71f)

A: UV/VIS (TFE): λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$)

kalt, sofort gemessen = 303 (5.6), 371 (2.5), 390 (2.3), 627 (1.1) nm

kalt, nach 4 Tagen = 270 (14.0), 336 (3.3), 367 (2.5), 487 (1.2), 627 (6.4) nm

erwärmt, sofort gem. = 336 (3.3), 367 (2.5), 487 (1.3), 487 (1.3), 627 (6.4) nm

erwärmt, nach 4 Tagen = 270 (14.0), 336 (3.3), 367 (2.5), 487 (1.2), 627 (6.4) nm

B: UV/VIS (TFE):

λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 303s (4.7), 367 (2.3), 627 (3.0) nm

C: UV/VIS (H_2SO_4 konz.): λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$)

sofort gemessen = 274 (23.0), 340 (3.0), 365 (2.1), 547 (8.1), 627 (5.4) nm

nach 4 Tagen = 206 (17.3), 237 (18.9), 274 (30.0), 340s (2.2), 539 (14.9) nm

6.1.6. 10-Ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-8-methoxy-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-Radikal-Kation (71g)

A: UV/VIS (TFE): λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$)

kalt, sofort gemessen = 257 (12.8), 305 (5.1), 385 (2.1) nm

kalt, nach 4 Tagen = 262 (20.2), 337 (4.0), 367 (2.2), 495 (1.4), 639 (7.9) nm

B: UV/VIS (TFE): λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$)

sofort gemessen = 260 (16.7), 305s (5.2), 366 (2.3), 391 (1.9), 639 (3.5) nm

nach 4 Tagen = 272 (22.0), 339 (4.4), 366 (2.5), 495 (2.0), 639 (12.0) nm

C: UV/VIS (H_2SO_4 konz.): λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$)

sofort gemessen = 275 (31.0), 340 (3.4), 355 (2.9), 557 (6.8), 651 (7.1) nm

nach 4 Tagen = 275 (35.0), 340s (2.1), 550 (17.3) nm

6.1.7. 1,2,3,4-Tetrahydro-8-methoxy-3,7,10-trimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-Radikal-Kation (71h)

A: UV/VIS (TFE): $\lambda_{max}(\varepsilon \times 10^{-3})$

kalt, sofort gemessen = 259 (1.6), 297s (5.9), 380 (2.6), 380 (2.6), 645 (1.4) nm

kalt, nach 4 Tagen = 270 (30.0), 340 (5.1), 366s (2.8), 489 (1.8), 645 (12.3) nm

B: UV/VIS (TFE): $\lambda_{max}(\varepsilon \times 10^{-3})$

sofort gemessen = 259 (17.6), 297s (5.9), 366 (2.5), 390s (2.3), 645 (2.7) nm

nach 4 Tagen = 270 (30.0), 340 (5.1), 366s (2.8), 489 (1.8), 645 (12.3) nm

C: UV/VIS (H_2SO_4 konz.): $\lambda_{max}(\varepsilon \times 10^{-3})$

sofort gemessen = 341 (3.8), 555 (10.7), 655 (7.5) nm

nach 4 Tagen = 335s (2.9), 552 (18.4) nm

6.2. 2,3,4,5-Tetrahydro-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b]-[1,4]benzothiazin-Neutralradikale (72)

Allgemeine Darstellungsmethoden:
Das Neutralradikal ist nur UV-spektroskopisch erfaßbar und wird hergestellt, indem man:

A) - in der Küvette eine 10^{-4} molare Lösung von reduziertem 5-Thiaflavin (66) in Chloroform mit der 0.5 äquimolaren Menge Brom, gelöst in Chloroform, unter Zusatz einer äquimolaren Menge Triethylamin in Chloroform versetzt;

B) - in der Küvette eine 10^{-4} molare Lösung von reduziertem 5-Thiaflavin (66) in Chloroform mit der 0.5 äquimolaren Menge einer 10%igen DBP-Lösung in Chloroform versetzt.

6.2.1. 10-Ethyl-2,3,4,5-tetrahydro-3,7,8-trimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-Neutralradikal (72a)

A: UV/VIS ($CHCl_3$):
$\lambda_{max}(\varepsilon \times 10^{-3})$ = 257 (11.6), 288 (9.5), 320 (3.1), 753 (0.9) nm

6.2.2. 8-Dimethylamino-10-ethyl-2,3,4,5-tetrahydro-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-Neutralradikal (72c)

A: UV/VIS ($CHCL_3$):
$\lambda_{max}(\varepsilon \times 10^{-3})$ = 271 (30.5), 372 (2.9), 792 (4.6) nm

B: UV/VIS ($CHCl_3$):
$\lambda_{max}(\varepsilon \times 10^{-3})$ = 271 (23.3), 356 (3.8), 792 (2.4) nm

6.2.3. 8-Amino-10-ethyl-2,3,4,5-tetrahydro-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-Neutralradikal (72d)

A: UV/VIS ($CHCl_3$):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 255 (14.8), 272s(11.2), 736 (3.0) nm

B: UV/VIS ($CHCl_3$):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 256 (14.9), 272s(11.4), 725 (2.5) nm

6.2.4. 10-Ethyl-2,3,4,5-tetrahydro-8-hydroxy-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-Neutralradikal (72f)

A: UV/VIS ($CHCL_3$):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 271 (19.6), 592 (4.8), 690s(2.3) nm

6.2.5. 10-Ethyl-2,3,4,5-tetrahydro-8-methoxy-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-Neutralradikal (72g)

A: UV/VIS ($CHCl_3$):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 228 (17.1), 567 (2.7), 665 (2.6) nm

6.3. 1,2,3,4-Tetrahydro-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b]-[1,4]benzothiazin-5-oxid (73)

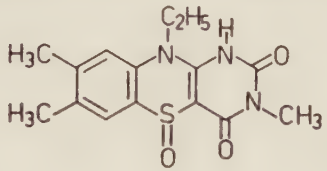
Allgemeine Darstellungsmethoden:

Syntheseweg A:
1 mmol 4a-Cl-Thiaflavin (64) werden in 30 ml Methanol/Wasser (1:1) gelöst und bei Raumtemperatur 24 Stunden gerührt. Der entstandene farblose Niederschlag wird gesammelt und aus Methanol/Wasser (8:2) umkristallisiert.

Syntheseweg B:
2 mmol reduziertes 5-Thiaflavin (66) werden in 10 ml Aceton suspendiert, erhitzt und mit 4 mmol einer 30%igen Wasserstoffperoxidlösung versetzt. Nach fünfstündigem rückfliessenden Erhitzen wird der farblose Niederschlag abgesaugt, mit Diethylether gewaschen und aus Methanol/Wasser (8:2) umkristallisiert.

Syntheseweg C:
4 mmol reduziertes 5-Thiaflavin (66) werden in 50 ml Chloroform gelöst und dazu portionsweise (unter ständiger DC-Kontrolle) 4 mmol (1 g = 20%iger Überschuß) 85%ige m-Chlorperbenzoesäure in Form einer 10%iger Chloroformlösung zugegeben. Nach drei Stunden wird der entstandene farblose Niederschlag abgesaugt und aus Methanol/Wasser (7:3) umkristallisiert.

6.3.1. 10-Ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-3,7,8-trimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-5-oxid (73a)



Die Herstellung erfolgt über den Syntheseweg B.

Farblose Kristalle, Schmp.: 206 °C, Ausb.: 0.45 g (70 % d.Th.).

$C_{15}H_{17}N_3O_3S$ (319.38) ber.: C 56.41 H 5.37 N 13.16 %
gef.: C 56.35 H 5.28 N 13.04 %

Spektroskopische Daten:

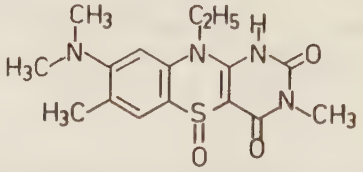
MS(200): m/z (rel.Int./%) = 319 (M^+., 9), 303 (43), 274 (87), 233 (68), 205 (20), 162 (15), 128 (54), 100 (4), 91 (23), 77 (15), 57 (100), 43 (80).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.24 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.30 (s; 3H, 7-CH_3),
2.38 (s; 3H, 8-CH_3),
3.21 (s; 3H, 3-CH_3),
4.37 (q; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
7.56 (s; 1H, 9-H),
7.67 (s; 1H, 6-H),
11.72 (s,breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3440,3170m (-NH), 2973m ($-CH_3$), 2850m ($-NCH_3$), 1701s (4C=O), 1640s (2C=O), 1590s (C=C), 1541m (-NH), 1501s (C=C), 1446,1412m ($-CH_3$), 1039s (S=O).

UV/VIS:
(1 N NaOH) λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 220 (21.4), 257 (31.2) nm
(3 N HCl) = 226 (27.4), 283 (9.7), 303 (6.6) nm

6.3.2. 8-Dimethylamino-10-ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-5-oxid (73c)



Die Herstellung erfolgt über den Syntheseweg C.

Farblose Kristalle, Schmp.: 130 °C, Ausb.: 0.88 g (63 % d.Th.).

$C_{16}H_{20}N_4O_3S$ (348.42) ber.: C 55.16 H 5.79 N 16.08 %
gef.: C 55.08 H 5.50 N 16.02 %

Spektroskopische Daten:

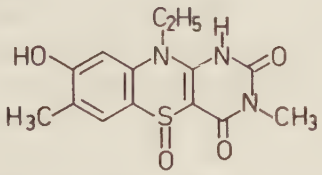
MS(120): m/z (rel.Int./%) = 348 (M^+.,26), 332 (14), 289 (55), 261 (100), 235 (23), 217 (18), 191 (11), 174 (11), 128 (28), 84 (49), 57 (36), 43 (31).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ /ppm= 1.21 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.24 (s; 3H, 7-CH_3),
2.72 (s; 6H, 8-$N(CH_3)_2$),
3.14 (s; 3H, 3-CH_3),
4.32 (q; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
6.98 (s; 1H, 9-H),
7.55 (s; 1H, 6-H),
11.42 (s,breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 3430,3240,3140m (-NH), 3085m (=C-H), 2980,2940m ($-CH_3$), 2840,2790m ($-NCH_3$), 1720s (4C=O), 1650s (2C=O), 1590,1500s (C=C), 1435m ($-CH_3$), 1070m (S=O).

UV/VIS:
(1 N NaOH) λ_{max} (ε x 10^{-3}) = 262 (30.8) nm
(Methanol) = 236 (16.3), 264 (16.3), 312s (4.5) nm
(3 N HCl) = 236 (16.4), 285 (7.5) nm

6.3.3. 10-Ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-8-hydroxy-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-5-oxid (73f)



Die Herstellung erfolgt über den Syntheseweg A.

Farblose Kristalle, Schmp.: 294 °C, Ausb.: 0.20 g (62 % d.Th.).

$C_{14}H_{15}N_3O_4S$ (321.35) ber.: C 52.33 H 4.71 N 13.08 %
gef.: C 52.10 H 4.34 N 12.88 %

Spektroskopische Daten:

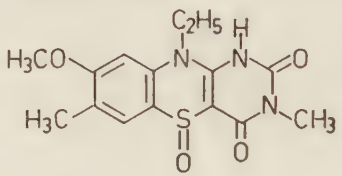
MS(200): m/z (rel.Int./%) = 321 (M^+.,21), 305 (18), 277 (67), 263 (100), 250 (42), 235 (68), 208 (49), 166 (40), 109 (30), 77 (29), 69 (40), 39 (29).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ /ppm= 1.27 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.11 (s; 3H, 7-CH_3),
3.17 (s; 3H, 3-CH_3),
4.28 (q; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
6.99 (s; 1H, 9-H),
7.24 (s; 1H, 6-H),
9.72 (s; 1H, mit D_2O aust., 8-OH),
11.51 (s,breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ /cm^{-1} = 3417 breit (-OH), 3280,3200m (-NH), 2973,2930m ($-CH_3$), 1710s (4C=O), 1654s (2C=O), 1592m (C=C), 1550s (-NH), 1397,1375m ($-CH_3$), 1065s (S=O).

UV/VIS:
(1 N NaOH) λ_{max}(ε x 10^{-3}) = 229 (16.6), 253 (40.5), 361s (5.2) nm
(Methanol) = 314s (6.6), 326 (26.0) nm
(6 N HCl) = 212 (20.4), 228 (20.2), 309s (5.9) nm

6.3.4. 10-Ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-8-methoxy-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-5-oxid (73g)



Die Herstellung erfolgt über den Syntheseweg A.

Farblose Kristalle, Schmp.: 265 °C, Ausb.: 0.20 g (60 % d.Th.).

$C_{15}H_{17}N_3O_4S$ (335.38) ber.: C 53.72 H 5.11 N 12.53 %
gef.: C 53.61 H 5.08 N 12.49 %

Spektroskopische Daten:

MS(340): m/z (rel.Int./%) = 335 (M^+.,11), 319 (50), 290 (97), 249 (28), 223 (81), 194 (28), 180 (63), 152 (19), 128 (22), 109 (21), 77 (22), 70 (38), 57 (100), 53 (17).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ/ppm= 1.29 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH}_3$),
2.21 (s; 3H, 7-CH_3),
3.21 (s; 3H, 3-CH_3),
3.97 (s; 3H, 8-OCH_3),
4.60 (q; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH}_2-CH_3$),
7.06 (s; 1H, 9-H),
7.64 (s; 1H, 6-H),
11.41 (s,breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): ν/cm^{-1} = 3527, 3428, 3221m (-NH), 3170m (=C-H), 2974m ($-CH_3$), 1705s (4C=O), 1638s (2C=O), 1594s (C=C), 1548m (-NH), 1495s (C=C), 1444s. 1385m ($-CH_3$), 1031m (S=O).

UV/VIS:
(1 N NaOH) λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 226 (25.4), 256 (49.0), 287 (13.2) nm
(6 N HCl) = 208 (15.2), 230 (28.2), 252 (30.4), 291 (9.6) nm

6.4. 2,3,4-Trihydro-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]-benzothiazin-5-ium (74)

Allgemeine Darstellungsmethoden:
Das Thiazonium-Kation ist, bis auf das Perchlorat [75], nicht isolierbar, sondern läßt sich nur UV-mäßig erhalten durch:

A) - Auflösen der entsprechenden reduzierten 5-Thiaflavine (66) in konzentrierter Schwefelsäure,

B) - Auflösen der entsprechenden 4a-Cl-Thiaflavine (64) in konzentrierter Schwefelsäure,

C) - Auflösen der entsprechenden 4a-Cl-Thiaflavine (64) in Trifluoressigsäure.

6.4.1. 10-Ethyl-2,3,4-trihydro-3,7,8-trimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-5-ium (74a)

A: UV/VIS (H_2SO_4 konz.):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 270 (15.2), 292 (16.1), 510 (6.8) nm

B: UV/VIS (H_2SO_4 konz.):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 290 (16.8), 371s (8.6), 510 (7.1) nm

C: UV/VIS (TFE):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 335 und 515 nm (qual.)

6.4.2. 8-Dimethylamino-10-ethyl-2,3,4-trihydro-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-5-ium (74c)

A: UV/VIS (H_2SO_4 konz.):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 315 (8.0), 508 (2.8), 661 (3.7) nm

B: UV/VIS (H_2SO_4 konz.):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 263 (9.3), 310 (4.7), 508 (1.2),
660 (2.1) nm

6.4.3. 10-Ethyl-2,3,4-trihydro-8-hydroxy-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-5-ium (74f)

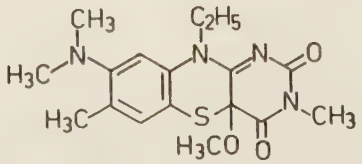
A: UV/VIS (H_2SO_4 konz.):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 203 (16.3), 237 (14.4), 274 (18.4), 538 (9.1) nm

6.4.5 10-Ethyl-2,3,4-trihydro-8-methoxy-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin-5-ium (74g)

A: UV/VIS (H_2SO_4 konz.):
λ_{max} ($\varepsilon \times 10^{-3}$) = 208 (10.6), 239 (15.0), 276 (25.0), 548 (15.0) nm

6.5. Darstellung von 75c

8-Dimethylamino-10-ethyl-2,3,4,5-tetrahydro-4a-methoxy-3,7-dimethyl-2,4-dioxo-10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazin (75c)



360 mg (1mmol) 64c werden in 30 ml Methanol suspendiert und nach Zugabe von $NaHCO_3$ vier Stunden rückfließend erhitzt. Nach dem Abkühlen saugt man den entstandenen weißen Niederschlag ab und kristallisiert aus Methanol um.

Farblose Kristalle, Schmp.: 140 °C.

Ausbeute: 0.27 g (75 % d.Th.).

$C_{17}H_{22}N_4O_3S$ (362.45) ber.: C 56.34 H 6.12 N 15.46 %
gef.: C 56.53 H 6.13 N 15.45 %

Spektroskopische Daten:

MS(140): m/z (rel.Int./%) = 362 (M^+.,42), 348 (22), 332 (6), 290 (39), 262 (100), 236 (34), 221 (29), 191 (32), 177 (25), 128 (45), 109 (38), 100 (27), 77 (15), 58 (47), 57 (47), 43 (62).

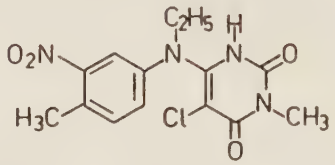
^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ /ppm= 1.13 (t; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH}_3$),
2.26 (s; 3H, 7-CH_3),
2.73 (s; 6H, 8-$N(CH_3)_2$),
3.13 (s; 3H, 3-CH_3),
3.17 (s; 3H, 4a-OCH_3),
4.05-4.48 (m; 2H, J=7/14Hz, $-\underline{CH}_2-CH_3$),
7.12 (s; 1H, 9-H),
7.60 (s; 1H, 6-H).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$/cm^{-1} = 2986,2926m ($-CH_3$), 2850m ($-NCH_3$), 2787m ($-OCH_3$), 1714w (4C=O), 1658s (2C=O), 1593m (C=C), 1427m ($-CH_3$).

UV/VIS:
(Methanol) λ_{max}(ε x 10^{-3}) = 226 (17.3), 246s(10.0), 272 (4.0), 332 (6.1) nm

7. Sonstige Verbindungen

5-Chlor-6-[Ethyl(4-methyl-3-nitrophenyl)amino]-3-methyl-2,4(1H,3H)-pyrimidindion (51i)



500 mg (1.6 mmol) 58i werden unter Argonatmosphäre mit 5 ml Thionylchlorid versetzt und 1 Stunde zum Sieden erhitzt. Nach Zusatz von 50 ml Methylenchlorid wird weitere 5 Stunden rückfließend erhitzt, das Lösungsmittel abgezogen und überschüssiges Thionylchlorid durch Abdampfen entfernt. Der Rückstand wird mit Diethylether angerieben und aus Aceton umkristallisiert.

Gelbe Kristalle, Schmp.: 218 °C.

Ausbeute: 60.4 mg (11 % d.Th.).

DC (FM I): Rf = 0.62

$C_{14}H_{15}CLN_4O_4$ (338.75) ber.: C 49.64 H 4.46 N 16.54 %
gef.: C 48.31 H 4.38 N 15.91 %

Spektroskopische Daten:

MS(180): m/z (rel.Int./%) = 340 (12), 338 (M^+.,34), 303 (72), 257 (66), 229 (13), 200 (38), 172 (42), 144 (11), 133 (17), 102 (24), 89 (27), 77 (28), 68 (34), 59 (42), 43 (100), 43 (62).

^{1}H-NMR ([D_6]DMSO): δ /ppm= 1.19 (t ; 3H, J=7Hz, $-CH_2-\underline{CH_3}$),
2.39 (s ; 3H, 4'-CH_3),
3.19 (s ; 3H, 3-CH_3),
3.75 (q ; 2H, J=7Hz, $-\underline{CH_2}-CH_3$),
7.18 (dd; 1H, J=8/2Hz, 6'-H),
7.35 (d ; 1H, J=8Hz, 5'-H),
7.44 (d ; 1H, J=2Hz, 2'-H),
11.76 (s , breit; 1H, mit D_2O aust.,1-NH).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ /cm^{-1} = 3436s (-NH), 2977m (-CH_3), 1705s (4C=O), 1654s (2C=O), 1615s (C=C), 1565m (-NH), 1527s (-NO_2), 1476, 1383m (-CH_3), 1348m (-NO_2).

IV LITERATURVERZEICHNIS

1) H.Theorell, Biochem.Z. 272, 155 (1934).
2) H.Theorell, Biochem.Z. 275, 37 (1935).
3) H.Theorell, Biochem.Z. 275, 344 (1935).
4) H.Theorell, Biochem.Z. 278, 263 (1935).
5) P.Karrer, K.Schöpp, F.Benz, Helv.Chim.Acta 18, 426 (1935).
6) V.Massey, P.Hemmerich, Biochem.Soc.Transactions 1980, 246.
7) S.G.Mayhew, C.Whitfield, S.Ghisla, M.Schuman-Jorns, Eur. J.Biochem. 44, 579 (1974).
8) S.Ghisla, S.G.Mayhew, Eur.J.Biochem. 63, 373 (1976).
9) R.Kuhn, T.Wagner-Jauregg, Chem.Ber. 66, 1577 (1933).
10) R.Kuhn, K.Reinemund, F.Weygand, Chem.Ber. 67, 1460 (1934).
11) P.Hemmerich, C.Veeger, H.C.S.Wood, Angew.Chem. 77, 699 (1965).
12) P.Hemmerich, Fort.Chem.Org.Naturst. 33, 451 (H.Griesebach, C.W.Kirby, ed.) Springer Verlag Wien, N.Y. (1976).
13) H.Fenner, H.H.Roessler, H.J.Duchstein, P.Hemmerich in "Flavins & Flavoproteins" (T.P.Singer,ed.) 343 (1976), Elsevier Amsterdam.
14) C.Walsh, Acc.Chem.Res. 13, 148 (1980).
15) R.R.Adams, C.A.Weisel, H.S.Mosher, J.Am.Chem.Soc. 68, 883 (1946).
16) R.D.Faulkner, J.P.Lambooy, J.Med.Chem. 6, 292 (1963).
17) J.P.Lambooy, H.V.Aposhian, J.Nutr. 47, 539 (1952).
18) R.Kuhn, P.Desnuelle, F.Weygand, Chem.Ber. 70, 1239 (1937).
19) F.Weygand, R.Löwenfeld, E.F.Müller, Chem.Ber. 84, 101 (1951).
20) F.E.King, R.M.Acheson, J.Chem.Soc. 1946, 681.
21) H.Hippchen, Chem.Ber. 80, 263 (1947).
22) F.Kipnis, N.Weiner, P.E.Spoerri, J.Am.Chem.Soc. 69, 799 (1947).
23) A.Burkett, J.Am.Chem.Soc. 69, 2555 (1947).
24) R.B.Barlow, H.R.Ing, J.Chem.Soc. 1950, 713.
25) J.J.Dombrowski, J.P.Lambooy, Arch.Biochem.Biophys. 159, 378 (1973).
26) V.M.Berezowskii, L.M.Melnikow, Zh.Obschek.Khim. 31, 3827 (1961).

27) F.Müller, P.Hemmerich, Helv.Chim.Acta 49, 2352 (1966).
28) W.T.Ashton, D.W.Graham, R.D.Brown, E.F.Rogers, Tetrahedron Letters 1977, 2551.
29) W.R.Knappe, F.Rothfelder, J.Chem.Research 1978, 1325.
30) L.T.Weinstock, C.J.Wiegand, C.C.Cheng, J.Am.Chem.Soc. 14, 1261 (1977).
31) F.E.King, T.J.King, G.B.Thompson, J.Chem.Soc. 1948, 552.
32) E.J.Reist, H.P.Hamlow, I.G.Junga, R.M.Silverstein, B.R.Baker, J.Org.Chem. 25, 1386 (1960).
33) O'Brien, Weinstock, Cheng, J.Hetero.Chem. 7, 99 (1970).
34) F.Yoneda, Y.Sakuma, S.Mizumoto, R.Ito, J.Chem.Soc. PERKIN I, 1976, 1805.
35) M.Janda, P.Hemmerich, Ang.Chem. 88, 475 (1976).
36) F.Yoneda, Y.Sakuma, J.Chem.Soc. Chem.Comm. 1976, 203.
37) R.L.Chan, T.C.Bruice, J.Am.Chem.Soc. 99, 6721 (1977).
38) W.T.Ashton, R.D.Brown, R.L.Tolman, J.Hetero.Chem. 15, 489 (1978).
39) A.Lacroix, J.P.Fleury, Tetrahedron Lett. 37, 3469 (1978).
40) K.Mori, K.Shinozuka, Y.Sakuma, F.Yoneda, J.Chem.Soc. Chem.Comm. 1978, 764.
41) H.Fenner, W.Bauch, Arch.Pharm. 311, 196 (1978).
42) R.L.Chan, T.C.Bruice, J.Am.Chem.Soc. 100, 7375 (1978).
43) W.T.Ashton, R.D. Brown, F.Jacobsen, C.Walsh, J.Am.Chem. Soc. 101, 4419 (1979).
44) F.Yoneda, K.Mori, Y.Sakuma, H.Yamaguchi, J.Chem.Soc. PERKIN I 1978, 978.
45) R.W.Grauert, Lieb.Ann.Chem. 1979, 1802.
46) F.Yoneda, K.Tsukuda, T.Asano, A.Koshiro, Heterocycles 12, 691 (1979).
47) H.J.Duchstein, H.Fenner, P.Hemmerich, W.R.Knappe, Eur.J.Biochem. 95, 167 (1979).
48) F.Yoneda, K.Tsukuda, K.Shinozuka, F.Hirayama, K.Uekama, A.Koshiro, Chem.Pharm.Bull. 28, 3049 (1980).
49) W.T.Ashton, R.D.Brown, J.Hetero.Chem. 17, 1709 (1980).
50) R.W.Grauert, Arch.Pharm. 313, 937 (1980).
51) F.Yoneda, K.Mori, M.Ono, Y.Kadokawa, E.Nagao, H.Yamguchi, Chem.Pharm.Bull. 28, 3514 (1980).
52) R.W.Grauert, Arch.Pharm. 315, 949 (1982).

53) H.Fenner, R.W.Grauert, P.Hemmerich, Lieb.Ann.Chem. 1978, 193.
54) H.Fenner, R.W.Grauert, Arch.Pharm. 311, 303 (1978).
55) R.Teichmann, Dissertation FU Berlin, 1976.
56) C.Hentzsch, Dissertation FU Berlin, 1982.
57) T.Hiramitsu, Y.Maki, J.Chem.Soc. Chem.Comm. 1977, 557.
58) L.D.Eirich, G.D.Vogels, R.S.Wolfe, Biochem. 17, 4583 (1978).
59) S.Otani, M.Takatsu, M.Nakano, S.Kasai, R.Miura, K.Matsui, J.Antibiot. 27, 88 (1974).
60) P.Hemmerich, V.Massey, H.Fenner, FEBS-Lett. 84, 5 (1977).
61) E.A.Falco, B.Roth, G.H.Hitchings, J.Org.Chem. 26, 1143 (1961).
62) B.Roth, G.H.Hitchings, J.Org.Chem. 26, 2770 (1961).
63) Knoll AG, Chem.Fabriken (Erf. A.Westerman, O.Bub, L.Suranyi), Ger. 1 110 651 (4.Dez.1958), C.A. 56, 2461a (1962).
64) A.P.Phillips, N.B.Mehta, J.Z.Strelitz, J.Org.Chem. 28. 1488 (1963).
65) B.Roth, L.A.Schloemer, J.Org.Chem. 28, 2659 (1963).
66) B.Roth, J.F.Bunnett, J.Am.Chem.Soc. 87, 334 (1965).
67) B.Roth, J.F.Bunnett, J.Am.Chem.Soc. 87, 340 (1965).
68) V.Granik, R.G.Glushkow, Khim.Pharm.Zh. 5, 10 (1971).
69) S.L.Jain, M.M.Mahandru, K.S.Narang, Indian J.Chem. 7, 301 (1969).
70) H.Fenner, Arzneim.Forsch. 20, 1815 (1970).
71) H.Fenner, Tetrahedron Lett. 9, 617 (1970).
72) K.Yaki, T.Ozawa, T.Nagatsu, Nature 184, 982 (1959).
73) H.H.Roessler, Dissertation FU Berlin, 1974.
74) H.Fenner, H.H.Roessler, R.W.Grauert, Arch.Pharm. 314, 1015 (1981).
75) H.Fenner, H.H.Roessler, R.W.Grauert, Arch.Pharm. 314, 1023 (1981).
76) Y.Maki, T.Hiramitsu, M.Suzuki, Chem.Pharm.Bull. 22 (6), 1265 (1974).
77) R.W.Grauert, Dissertation FU Berlin, 1976.

78) Pfizer Chas.Inc. (Erf. I.M.Goldman) Franz.Pat. 1 565 368, C.A. 72, 79078z (1970).

79) L.Tessendorf, Dissertation FU Berlin, 1982.

80) H.Fenner, L.Tessendorf in "Flavins & Flavoproteins", 451, (V.Massey, Ch.H.Williams, ed.), 1982.

81) H.Fenner, R.W.Grauert, L.Tessendorf, Arch.Pharm. 314, 874 (1981).

82) R.M.Roberts, P.J.Vogt, J.Am.Chem.Soc. 78, 4778 (1956).

83) J.W.Schulenberg, S.Archer, Org.React. 14, 1 (1965).

84) R.A.W.Johnstone, C.W.Payling, C.Thomas, J.Chem.Soc. 1969, 2223.

85) F.Yoneda, Y.Sakuma, M.Ichiba, K.Shinomura, J.Am.Chem. Soc. 98, 830 (1976).

86) G.Nübel, W.Pfleiderer, Chem.Ber. 95, 1605 (1962).

87) I.M.Goldman, J.org.Chem. 34, 3285 (1969).

88) H.J.Grande, C.G.van Schlagenek, Helv.Chem.Acta 60, 348 (1977).

89) H.Fenner, R.W.Grauert, P.Hemmerich, H.Michel, V.Massey, Eur.J.Biochem. 95, 183 (1979).

90) S.Ghisla, U.Hartmann, P.Hemmerich, F.Müller, Liebigs Ann.Chem. 1388 (1973).

91) W.R.Knappe, P.Hemmerich, Liebigs Ann.Chem. 2037 (1976).

92) M.Bock, Dissertation FU Berlin, 1984.

93) K.H.Dudley, A.Ehrenberg, P.Hemmerich, F.Müller, Helv. Chim.Acta, 47, 1354 (1964).

94) A.Albert, E.P.Sergeant, in "Determination of Ionization Constants", Chapman & Hall Ltd., London 1971, 44.

95) L.Michaelis, M.P.Schubert, C.V.Smythe, J.Biol.Chem. 116, 584 (1936).

96) L.Michaelis, G.Schwarzenbach, J.Biol.Chem. 123, 527 (1938).

97) H.Beinert, J.Am.Chem.Soc. 78, 5323 (1956).

98) F.Müller, P.Hemmerich, A.Ehrenberg in "Flavins & Flavoproteins" (E.C.Slater,ed.), 107 (1966), Elsevier Amsterdam.

99) A.Ehrenberg, F.Müller, P.Hemmerich, Eur.J.Biochem. 2, 286 (1967).

100) A.Ehrenberg, L.E.G.Erickson, F.Müller, in "Flavins & Flavoproteins" (E.C.Slater, ed), 37 (1966), Elsevier Amsterdam.

101) G.Palmer, F.Müller, in "Flavins & Flavoproteins" (E.C. Slater, ed.), 123 (1966), Elsevier Amsterdam.

102) A.Ehrenberg, L.E.G.Ericksn, J.S.Hyde in "Flavins & Flavoproteins" (E.C.Slater, ed.), 141 (1966), Elsevier Amsterdam.

103) R.D.Draper, L.L.Ingraham, Arch. Biochem.Biophys. 125, 802 (1968).

104) R.Kuhn, R.Stöbele, Chem. Ber. 70, 753 (1937).

105) L.E.Brown, G.A.Hamilton, J.Am.Chem.Soc. 92, 7225 (1970).

106) G.A.Hamilton,"Progress in Bioorganic Chemistry (E.T. Kaiser, F.J.Kezdy, ed.), 83 (1971), Verlag Wiley N.Y.

107) T.C.Bruice, L.Main, S.Smith, P.Y.Bruice, J.Am.Chem.Soc. 93, 7327 (1971).

108) T.C.Bruice, in "Flavins & Flavoproteins" (T.P.Singer, ed), 244 (1976), Elsevier Amsterdam.

109) P.Hemmerich, M.Schuman-Jorns in "Enzymes: Structure and Function " (C.Veeger, F.Drenth, R.A.Oosterhaan, ed.), 29, 95 (1973), Amsterdam FEBS-Symposia.

110) H.I.X.Mager, W.Berends, Rec.Tra.Chim. 84, 1329 (1965).

111) S.Kasai, R.Miura, K.Matsui, Bull.Chem.Soc.Jpn. 18, 2877 (1975).

112) R.J.Bonney, P.D.Wightman, P.Davies, S.J.Sadowski, F.A.Kuehl jr., J.L.Humes, J.Biochem. 176, 433 (1978).

113) D.Siebler, Dissertation FU Berlin in Vorbereitung.

114) B.Schröder, Dissertation FU Berlin in Vorbereitung.

115) L.W.Clemence, E.W.Raiziss, J.Am.Pharm.Assoc. 23, 536 (1934).

116) F.Ullmann, R.Fitzenkam, Ber.Dtsch.Chem.Ges. 38, 3787 (1905).

117) V.M.Micovic, M.LJ.Mihailovic, J.Org.Chem. 18, 1190 (1953).

LEBENSLAUF

21.Februar 1958	geboren in Berlin Vater: Dr. med Adalbert Jerchow Mutter: Elise Jerchow, geb. Gnaß
1964 - 1970	Grundschule auf dem Tempelhofer Feld, in Berlin Tempelhof
1970 - 1976	Askanische Oberschule (Gymnasium) in Berlin Tempelhof
11.Juni 1976	Abitur
30.11.1976 - 31.3.1980	Studium der Pharmazie an der Freien Universität Berlin
1.04.1980 - 30.9.1980	Praktikum in der Arminius-Apotheke, Berlin-Neukölln
1.10.1980 - 31.3.1981	Praktikum an der FU Berlin
17.August 1981	Pharmazeutische Prüfung
21.September 1981	Approbation als Apothekerin
Oktober 1980	Beginn der vorliegenden Dissertation
ab 25.Mai 1981	Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin
seit dem 29.Juni 1984	verheiratet mit Klaus Mecklenburg